Die TTC-Reaktion von α-Ketolsteroiden

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Hans-Dieter Schittenhelm

aus Stuttgart

1968

9627

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0019

Die TTC-Reaktion von α-Ketolsteroiden

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Hans-Dieter Schittenhelm

aus Stuttgart

1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Mai 1968

Dekan: Professor Dr. H. Blume
1. Berichterstatter: Dozent Dr. H. Möhrle
2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Auterhoff

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Meinem verehrten Lehrer

Herrn Privatdozent Dr. Hans M ö h r l e

danke ich für die Überlassung des Themas, sowie für die jederzeit gewährte großzügige Unterstützung und vielseitige Förderung.

Gleichzeitig gestatte ich mir, dem Direktor des Pharmazeutisch-chemischen Institutes, Herrn Professor Dr. Harry A u t e r h o f f , für das mir entgegengebrachte Wohlwollen zu danken.

Meinen Eltern
in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

Einleitung 1

Problemstellung 5

Theoretischer Teil 7

- Pharmakopöe-Prüfungsmethoden 7
- Standardbedingungen für die Durchführung der TTC-Reaktion 9
- Umsetzung DOC mit TTC 10
- Ansatz invers 14
- CD-Untersuchung der Glyoxylsäure 16
- Umsetzung Reichstein Substanz S mit TTC 19
- Glyoxaldarstellung 20
- Oxydation des Glykolsäuremethylesters 24

Modellversuche 28

- Darstellung von p-Phenyl-phenylhydroxymethyl-keton 28
- Umsetzung von p-Phenyl-phenylhydroxymethyl-keton mit TTC 31
- Darstellung von p-Phenyl-phenylglyoxal 32
- Darstellung und Umsetzung von Benzoylcarbinol mit TTC 34
- Darstellung von Cyclohexylhydroxymethylketon . 35
- Darstellung von Cyclohexylglykolsäure 37
- Umsetzung von Cyclohexylhydroxymethylketon mit TTC 38
- Umsetzung Acetol mit TTC 39
- Deutung der Versuche 41

Zusammenfassung 46

Beschreibung der Versuche . 49

- IR-spektroskopische Untersuchung der Steroid-glyoxylsäure 56
- CD-Untersuchung der Säuren aus der Umsetzung DOC mit TTC 59
- Bandenzuordnung der IR-Spektren 84

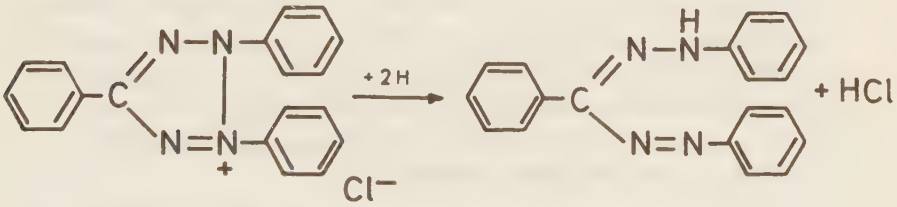
Anhang 85

- Aufklärung des Homologisierungsproduktes X . . 85

E i n l e i t u n g

In der modernen Analytik werden Nachweise oder quantitative Bestimmungen häufig über Oxydations- oder Dehydrierungsreaktionen durchgeführt. Während früher die mangelnde Spezifität dieser Methode ungünstig war, konnte durch Entwicklung selektiver Oxydantien eine Verbesserung erreicht werden.

Nach Einführung der Photometrie zu Routineanalysen wurden solche Redoxindikatoren interessant, bei denen das oxydierte bzw. dehydrierte Reagens farblos, die reduzierte Form dagegen intensiv gefärbt ist. Eine solche Verbindung stellt das Triphenyltetrazoliumchlorid (abgekürzt TTC) dar.



TRIPHENYLTETRAZOLIUM-CHLORID, farblos, hydrophil

TRIPHENYLFORMAZAN, rot, lipophil

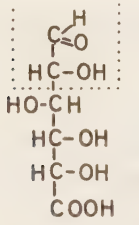
TTC war von dem Apotheker P. Runge im Rahmen einer Dissertation bei v. PECHMANN[1] durch Oxydation der kurz vorher aufgefundenen Formazylverbindungen dargestellt worden. Als analytisches Reagens wurde das TTC aber erst etwa 50 Jahre später durch KUHN und JERCHEL[2] sowie JERCHEL und MÖHLE[3] eingeführt.

---

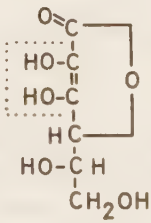
1) H.v.PECHMANN, Ber.dtsch.chem.Ges. 25, 3175 (1892).
2) R.KUHN u. D.JERCHEL, Ber.dtsch.chem.Ges. 74, 941 (1941).
3) D.JERCHEL u. W.MÖHLE, Ber.dtsch.chem.Ges. 77, 591 (1944).

TTC ist in neutralem Milieu ein schwacher Wasserstoffacceptor, dessen Reduktionspotential mit -0,083 Volt niedriger als das von Methylenblau ist, also auch schwächer dehydrierend wirkt. Findet mit einem Substrat eine Reduktion von TTC in neutralem Medium nicht, wohl aber in alkalischem Milieu statt, so darf mit großer Wahrscheinlichkeit geschlossen werden, daß eine α-Ketolgruppe oder eine vergleichbare Partialstruktur vorliegt. Diese Verbindungen zählen nach einem Vorschlag von MICHEEL[4] zu den Reduktonen im weiteren Sinne und können eine Endiol- oder entsprechende Form ausbilden.

So reagieren z. B. Ascorbinsäure und Glukuronsäure in alkalischem Milieu unter bestimmten Bedingungen in stöchiometrischen Verhältnissen mit TTC, ebenso wie alle anderen reduzierenden Zucker[5], was zu einer konventionellen quantitativen Bestimmung ausgewertet wurde. Dabei sind aber, von der Ascorbinsäure abgesehen, keine Reaktionsprodukte isoliert oder erkannt worden.



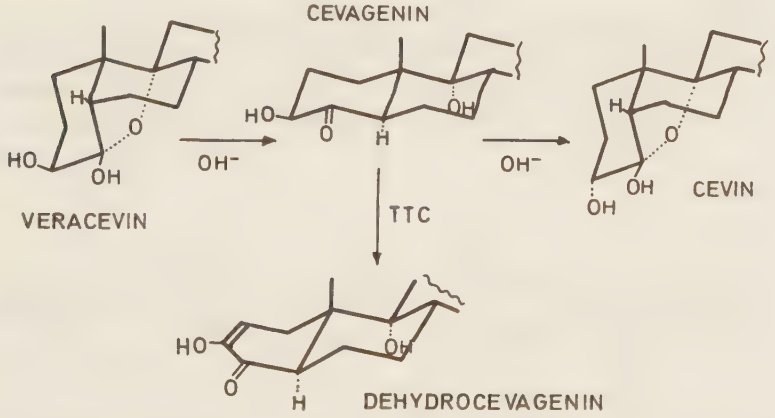
GLUKURONSÄURE



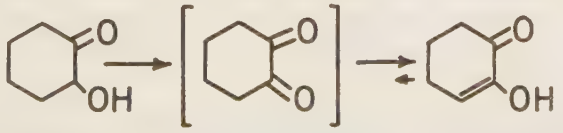
ASCORBINSÄURE

4) F.MICHEEL, Ber.dtsch.chem.Ges. 70, 1862, Fußnote 1 (1937).
5) K.WALLENFELS, Naturwissenschaften 37, 491 (1950). W.E.TREVELYAN, D.P.PROCTOR u. J.S.HARRISON, Nature (London) 166, 444 (1950).

Durch die relativ große Strukturspezifität wurde TTC auch zur Ermittlung von Partialstrukturen von Naturstoffen benutzt. So waren bei der Konstitutionsklärung der Sabadilla- und Veratrumalkaloide lange keine Fortschritte festzustellen, weil bei der Verseifung der genuinen Esteralkaloide isomere Alkamine entstehen, die sich teilweise ineinander umlagern. Erst die Entdeckung von AUTERHOFF[6] und später von STOLL, daß eine positive TTC-Reaktion spezifisch für Cevagenin ist, ließ zunächst Unterscheidungen zu. Sie führte dann auch zur Festlegung der α-Ketolstruktur des Cevagenins.



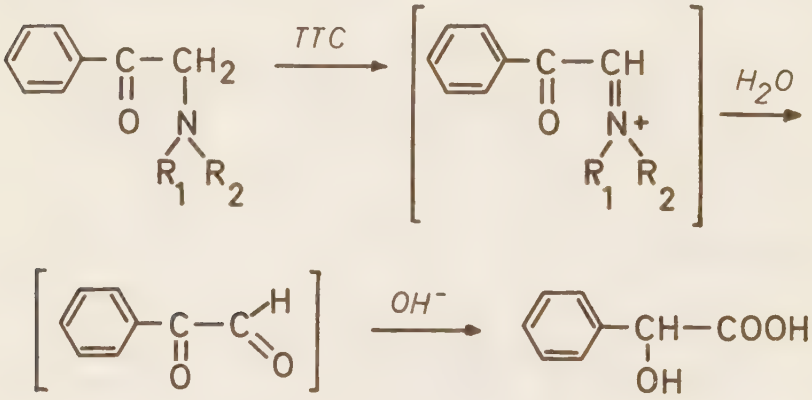
Hier wurde aber darüberhinaus in einer gründlichen Modellstudie am Adipoin das Diosphenol als Reaktionsprodukt erkannt, welches die begünstigte Enolform des Diketons darstellt. Ein entsprechendes Derivat entsteht auch beim Cevagenin.



6) H.AUTERHOFF u. G.ZEISNER, Arch.Pharmaz. 286, 525 (1953). A.STOLL, D.STAUFFACHER u. E.SEEBECK, Helv.chim.Acta 36, 2027 (1953).

Von offenen, endständigen α-Ketolen, die meist instabil sind, liegen nur vereinzelte Untersuchungen vor[7].

Überraschenderweise zeigen jedoch auch N-tertiäre α-Aminoketone[8a-e], die keine der Endiol-Form entsprechende Enolimin-Struktur ausbilden können, eine positive TTC-Reaktion. Eine Untersuchung des Reaktionsverlaufs ergab, daß hier bei der Dehydrierung ein Proton und zwei Elektronen unter gleichzeitiger Ausbildung eines Carbonium-Imonium-Ions entzogen werden. Dabei tritt folgende Umsetzung ein:

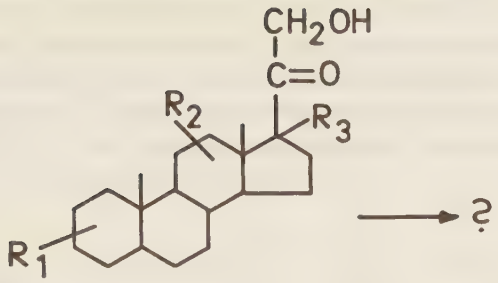


Es wird als Endprodukt eine α-Hydroxysäure erhalten, die als Umlagerungsprodukt eines α-Ketoaldehyds in alkalischem Medium aufzufassen ist.

Es stellte sich nun die Frage, ob für die TTC-Reaktion mit α-Ketolsteroiden, wie sie in der pharmazeutischen Analyse, sowohl mit Reinsubstanzen als auch mit Zubereitungen durchgeführt wird, ein analoger Verlauf eintritt.

---

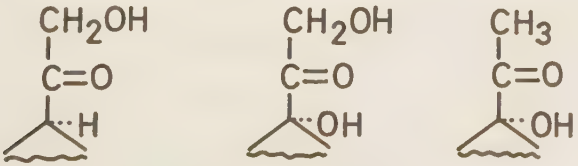
7) H.AUTERHOFF u. H.J.FLACH, Arch.Pharmaz. 295, 460 (1962).
8a) H.MÖHRLE u. H.J.ROTH, Arch.Pharmaz. 296, 811 (1963).
b) H.J.ROTH u. H.MÖHRLE, Arch.Pharmaz. 297, 58 (1964).
c) H.MÖHRLE u. H.J.ROTH, Arch.Pharmaz. 297, 93 (1964).
d) H.J.ROTH u. H.MÖHRLE, Naturwissenschaften 51, 107 (1964).
e) H.J.ROTH u. H.MÖHRLE, Arch.Pharmaz. 299, 315 (1966).



Obgleich diese Wertbestimmung in vielen Pharmakopöen Aufnahme gefunden hat, wurde sie bisher lediglich als Konventionsmethode ausgeführt, ohne daß etwas über den Mechanismus der Reaktion oder die Umsetzungsprodukte bekannt geworden wäre.

P r o b l e m s t e l l u n g

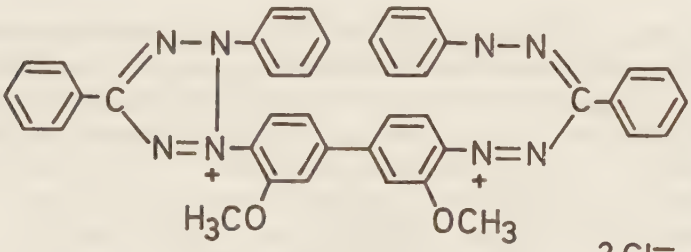
In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, die Reaktionsprodukte der α-Ketolsteroide bei der TTC-Reaktion zu isolieren und in ihrer Konstitution aufzuklären. Es wurden dazu drei Typen von Modellsubstanzen ausgewählt, die sich zwar in der Anordnung der α-Ketolstruktur, aber möglichst wenig in Bezug auf die anderen funktionellen Gruppen unterscheiden.



Dabei sollte gleichzeitig die Abhängigkeit von funktionellen Nachbargruppen als auch von sterischen Einflüssen untersucht werden. Schließlich war an einfachen Modellsubstanzen festzustellen, ob der Reaktionsmechanismus bei alicyclischen und aromatischen α-Ketolen gleichartig oder verschieden zu formulieren ist.

Pharmakopöe - Prüfungsmethoden

Zum qualitativen Nachweis[9] und zur quantitativen Bestimmung[10), 11), 12)] von α-Ketolsteroiden in der Arzneimittelanalyse[13)] wird die Dehydrierungsreaktion mit TTC, Blautetrazoliumchlorid oder ähnlichen Tetrazolium-Derivaten[14)] als Reagenzien durchgeführt.



BLAUTETRAZOLIUMCHLORID

In den verschiedenen Pharmakopöen sind bei den α-Ketolsteroiden meist die entsprechenden O-Acetylverbindungen oder andere Ester wegen der besseren Haltbarkeit im Vergleich zum freien Hydroxyketon aufgenommen worden. Da die TTC-Reaktion in alkalischem Milieu durchgeführt wird und die Ester leicht zu verseifen sind, ist auch hier die Anwendung der Reaktion möglich.

Auf Grund der Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren, die sich auch in den Untersuchungsvorschriften der einzelnen Arzneibücher widerspiegelt, handelt es sich um eine empfindliche Konventionsmethode. Während beispielsweise in

---

9) P.J.STEVENS, J.Chromatogr. (Amsterdam) 14, 269 (1964).
10) R.B.BURTON u. A.ZAFFARONI, J.biol.Chemistry 188, 763 (1951).
11) H.HOFMANN u. Hj.STAUDINGER, Naturwissenschaften 38, 213 (1951).
H.HOFMANN u. Hj.STAUDINGER, Biochem.Z. 322, 230 (1951).
12) P.VECSEI, D.LOMMER, H.G.STEINACKER u. H.P.WOLFF, J.Chromatogr. (Amsterdam) 26, 533 (1967).
13) G.DULTZ, Dtsch.Apotheker-Ztg. 101, 1339 (1961).
14) A.W.NINEHAM, Chem.Reviews 55, 355 (1955).

der USP XV noch diffuses Licht zugelassen war, schreibt die USP XVII Ausschluß von Licht vor, obgleich sie vom TTC-Reagens zum Blautetrazoliumsalz übergewechselt ist, wo es durch Licht zu keiner Disproportionierung mehr kommen soll[15]. In der USP XV wurde die Reaktion in absolut äthanolischer Lösung durchgeführt, wogegen die USP XVII 96prozentiges Äthanol zur Umsetzung verlangt.

Weiterhin schrieb die USP XV bei der photometrischen Bestimmung verschiedene Absorptionsmaxima (485 und 490 nm) vor, obwohl nach dem Reaktionsverlauf in jedem Fall nur das Formazan bestimmt werden soll. Die Wartezeiten waren ebenfalls je nach Substanz verschieden. In der USP XVII wurde dies einheitlich gestaltet, aber auch hier muß immer noch mit einem Standard verglichen werden.

Die Britische Pharmakopöe 63 behält TTC als Dehydrierungsreagens bei und verlangt neben vollständigem Lichtausschluß zusätzlich noch Inertgas-Atmosphäre durch Arbeiten mit sauerstoffreiem Stickstoff, da bereits der Sauerstoff der Luft einen Einfluß auf die Reaktion ausüben würde. Die Temperatur muß gleichfalls festgelegt werden, um eine gute Reproduzierbarkeit zu erreichen. Während die USP XVII bei Raumtemperatur arbeitet, schreibt die BP 63 30° vor.

Schließlich spielt die Reihenfolge der Zugabe der Reagenzien eine nicht unwesentliche Rolle. Nach der USP XV wurde das Ketol zuerst mit der Base und dann erst mit TTC versetzt, wogegen die modernen Pharmakopöevorschriften den zweifellos besseren Weg, die Base erst zuletzt dem Ansatz zuzufügen, wählen[16].

---

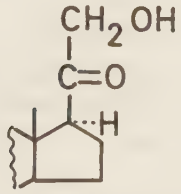
15) A.M.RUTENBERG, R.GOFSTEIN u. A.M.SELIGMAN, Cancer Research 10, 113 (1950); A.D'AMICO, M.VIOLA, G.O.SALE u. V.BOLLATI, Boll.Chim.Farmac. 99, 361 (1960).

16) T.CHULSKI u.A.FORIST, J.Amer.Pharmac.Assoc.Sci.Edit. 47, 553 (1958) beschreiben eine Veränderung des Prednisolons unter der basen-katalytischen Zersetzung durch eine wässrige Magnesiumoxidlösung. L.VELLUZ, A.PETIT, M.PESEZ u. R.BENET, Bull.Soc.chim. France 1947, 123 berichten über die Zersetzung von Desoxycorticosteronacetat in Gegenwart von Luft, die zu sauren und neutralen Steroidprodukten führt.

Trotz diesen konventionellen Belastungen und der keineswegs absoluten Spezifität[8), 17), 18)] hat sich die Methode so durchgesetzt, daß sogar vollautomatische Bestimmungen ausgearbeitet wurden[19)].

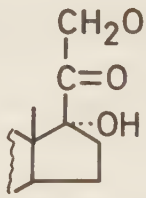
Standardbedingungen für die Durchführung der TTC-Reaktion

Von den drei zu untersuchenden α-Ketolsteroiden zeigten bei Raumtemperatur Desoxycorticosteron (I) und Reichsteins Substanz S (XI) eine spontan einsetzende Umsetzung mit TTC an.



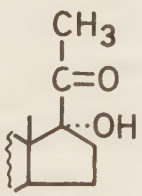
DESOXYCORTICOSTERON

TTC +



REICHSTEIN S

TTC +



17α-HYDROXY-PROGESTERON

TTC –

17α-Hydroxyprogesteron reagierte unter diesen Bedingungen nicht. Erst nach kräftiger Temperaturerhöhung fand eine unspezifische Reaktion statt.

Verfährt man entsprechend der USP XVII- bzw. der BP 63-Methode unter Verwendung von TTC und mit den α-Ketolsteroiden als Substrat, so ist eine direkte Dünnschicht-

17) H.AUTERHOFF u. G.ZEISNER, Arch.Pharmaz. 287, 541 (1954).
18) E.F.SALIM, P.E.MANNI u. J.E.SINSHEIMER, J.Pharm.Sciences 53, 391 (1964); J.E.SINSHEIMER u. E.F.SALIM, Analyt. Chem. 37, 566 (1965).
19) W.F.BEYER, J.pharm.Sci. 55, 200 (1966).

chromatographie des Ansatzes wegen des großen Überschusses an Formazan und TTC nur schlecht möglich. Nach der Aufarbeitung erhält man im Dünnschichtchromatogramm eine Reihe von Flecken unterschiedlicher Intensität, deren Trennung voneinander z. T. nicht sehr deutlich ist. Eine einfache Isolierung und Identifizierung der Reaktionsprodukte scheint deshalb ausgeschlossen.

Prinzipiell treten darüberhinaus bei der Aufarbeitung folgende Schwierigkeiten auf:
1) Das in relativ hoher Konzentration vorliegende Formazan, das auf Grund seiner Lipophilität stets bei den neutralen Steroiden auftaucht, läßt sich auch durch Verwendung verschiedener Lösungsmittel nicht entfernen.
2) Beim Gebrauch von Lösungsmitteln mit höheren Siedepunkten, z. B. Aethanol zur Ausführung der Reaktion, muß auch bei schonender Entfernung bereits mit Zersetzungen und Artefakten gerechnet werden.

Wir versuchten daher, durch die Wahl milderer Reaktionsbedingungen die Zahl der Reaktionsprodukte zu vermindern. Gleichzeitig sollte die Synthese von Stoffen, die nach den bisherigen Erfahrungen eventuell als Oxydationsprodukte möglich schienen, durchgeführt und ein Vergleich mit den TTC-Ansätzen angestellt werden.

Zur Untersuchung der Dehydrierungsprodukte modifizierten wir die TTC-Reaktion und arbeiteten unter Stickstoff, bei niederer Temperatur und mit Methylenchlorid - einem niedersiedenden, mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel. Damit konnte ohne vorausgehende Destillation sofort durch Ausschütteln aufgearbeitet werden.

Umsetzung Desoxycorticosteron mit TTC

Nach Durchführung der Reaktion von Desoxycorticosteron (I) mit TTC zeigten die Extrakte aus verschiedenem pH folgen-

des Dünnschichtchromatogramm (Fließmittel I):

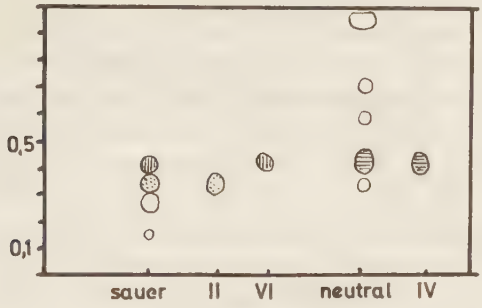
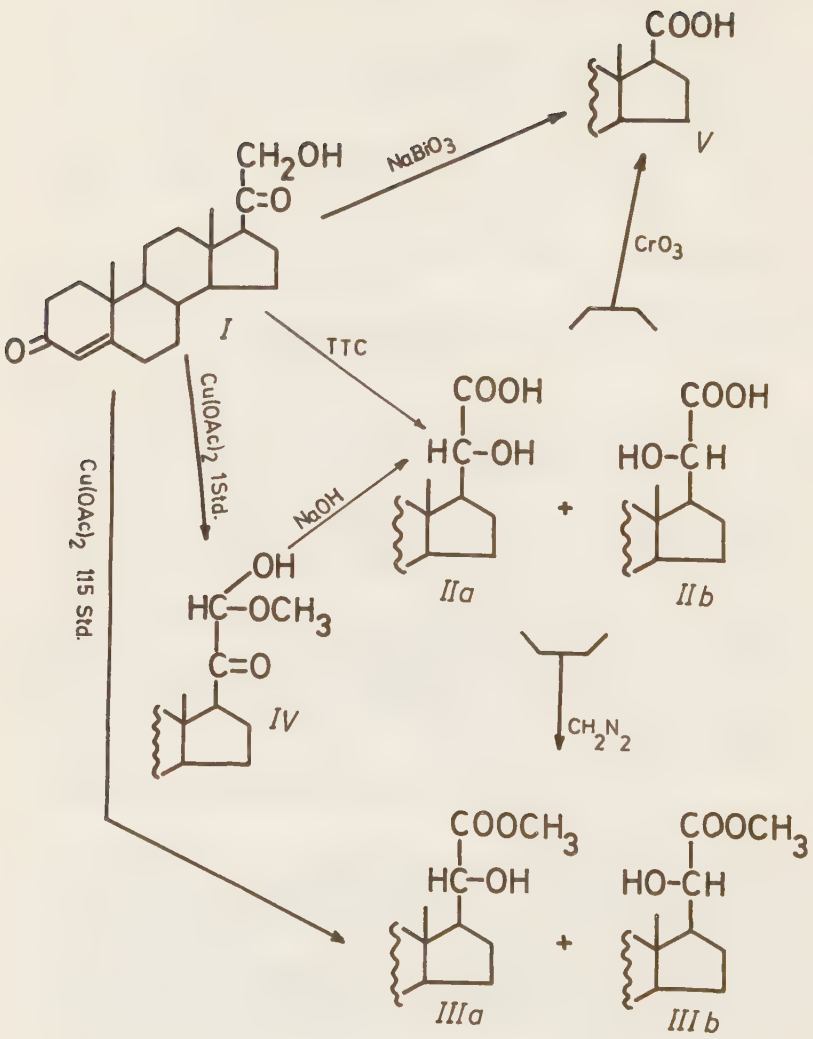


Abb.1

Durch Ausschütteln mit Hydrogencarbonatlösung erhielten wir ca. 35% einer Säurefraktion. Nach Veresterung mit Diazomethan gelang es durch Verteilungschromatographie an einer Celite-Säule 2 Hydroxycarbonsäureester zu gewinnen, die zwar dünnschichtchromatographisch nicht, wohl aber papierchromatographisch zu trennen waren. Das Auftreten von zwei Verbindungen resultiert aus der Bildung eines neuen zusätzlichen Asymmetriezentrums, an dem die OH-Gruppe fixiert ist, was Diastereomere zur Folge hat (siehe Formelschema S. 12).

Der Konstitutionsbeweis für die epimeren Hydroxysäuren wurde wie folgt geführt:
Die Oxydation der beiden Säuren ergab die entsprechende C-17-Carbonsäure V, die mit der aus Desoxycorticosteron durch Wismutat-Oxydation nach BROOKS und NORYMBERSKI[20] dargestellten Säure identisch war. Langzeit-Kupferacetat-Dehydrierung nach LEWBART und MATTOX[21] lieferte aus Desoxycorticosteron (I) direkt die epimeren Hydroxycarbonsäuremethylester (IIIa + IIIb), die säulenchromatographisch getrennt wurden. Die Übereinstimmung der Ver-

20) C.H.W.BROOKS u. J.K.NORYMBERSKI, Biochem.J. 55, 371 (1953).
21) M.L.LEWBART u. V.R.MATTOX, J.org.Chemistry 28, 1779 (1963).



bindungen aus den beiden Versuchen ergab sich aus den Elementaranalysen, den Mischschmelzpunkten, IR-Spektren und dem papierchromatographischen Verhalten.

Bei einer kurzen Kupferacetat-Dehydrierung nach LEWBART und MATTOX[22] gewinnt man das entsprechende Glyoxalhalbacetal (IV), das durch Natronlauge in das Gemisch der epimeren Hydroxysäuren (IIa + IIb) umgelagert werden kann, welches mit den entsprechenden aus dem TTC-Ansatz identisch war. Eine Klärung der Konfiguration von C-20 war nicht erforderlich, da diese bereits aus der Arbeit von LEWBART und SCHNEIDER[23] hervorgeht.

Damit war das Hauptprodukt der Säurefraktion erkannt, das im Dünnschichtchromatogramm sowohl als freie Säure, wie auch als Methylester durch eine intensiv gelbe Farbe bei der Behandlung mit p-Toluolsulfonsäure in der Hitze auffiel. Der weitere Fleck mit größerem Rf-Wert und grauer Farbe bei gleicher Detektion konnte ebenfalls aufgeklärt werden. Dabei handelt es sich um die entsprechende C-20-Ketosäure (siehe unten). Sie konnte zwar aus diesem Ansatz nicht isoliert werden, jedoch ist die Identität auf Grund von dünnschichtchromatographischem Vergleich und circulardichroitischen Messungen mit authentischer Substanz gesichert.

Das Dünnschichtchromatogramm der Neutralphase des Ansatzes zeigt neben dem Formazanfleck an der Front, in der Nähe des Startpunkts drei am Rande übereinanderliegende, aber scharf abgegrenzte Flecke von brauner, blauer und violetter Farbe. Dabei dürfte es sich um Nebenprodukte aus TTC oder Triphenylformazan handeln[24], da bei einem TTC-Ansatz mit Ascorbinsäure die gleichen Punkte im Dünnschichtchromatogramm beobachtet werden können.

Der Hauptfleck der Neutralphase ist bei der Detektion violett gefärbt und zeigt denselben Rf-Wert wie das

---

22) M.L.LEWBART u. V.R.MATTOX, J.org.Chemistry 28, 2001 (1963).
23) M.L.LEWBART u. J.J.SCHNEIDER, J.org.Chemistry 29, 2559 (1964).
24) H.SEILER u. H.SCHMID, Helv.chim.Acta 37, 1 (1954).

Glyoxal-Derivat IV. Allerdings gelang es nicht, durch Umsetzung mit Girards Reagens, Abtrennung der quartären Verbindung und anschließende Zerlegung, das Glyoxal zu erhalten, da nur Zersetzungsprodukte auftraten.

Bei der Modifizierung des TTC-Ansatzes mit inverser Reihenfolge der Reagenzien und dem α-Ketol, d. h. Zugabe des Desoxycorticosterons zu einer alkalischen Lösung von TTC, wurden andere Ergebnisse erhalten, wie aus dem nachfolgenden Dünnschichtchromatogramm (mit Fließmittel I) ersichtlich ist:

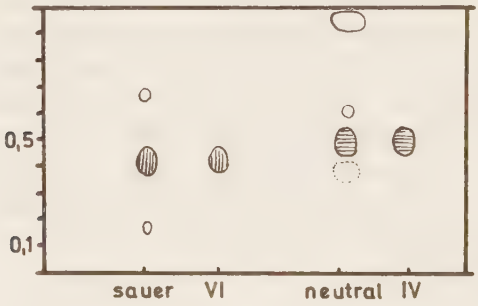
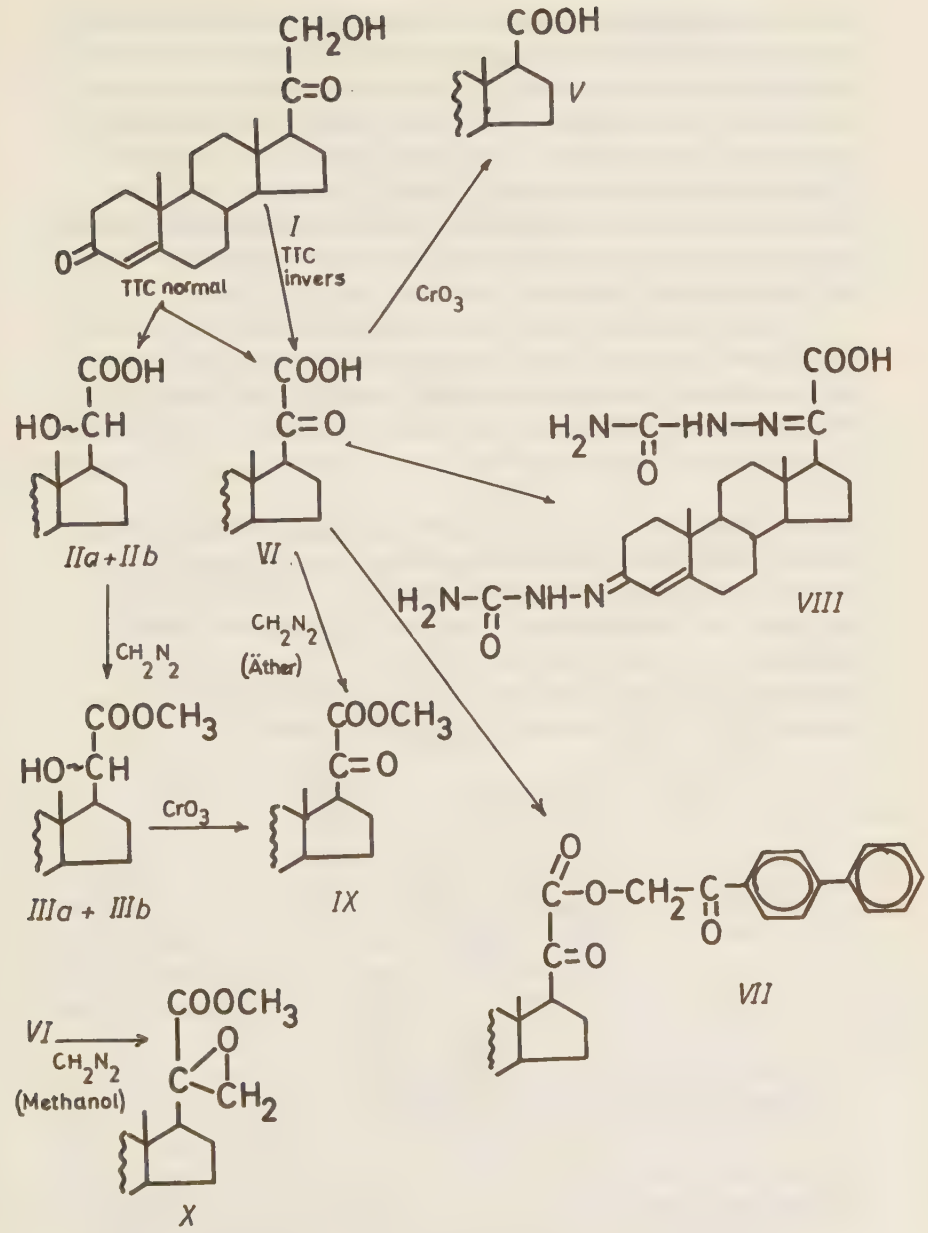


Abb. 2

Aus dem hydrogencarbonatalkalischen Extrakt konnte eine saure Substanz in ca. 65proz. Ausbeute gewonnen werden, die nicht mit der Hydroxysäure II identisch war. Die Hydroxysäure konnte nicht einmal dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden. Der Säurecharakter der neuen Substanz ergab sich aus der Bildung eines p-Phenyl-phenacylesters. Aufgrund des IR-Spektrums war die 4-en-3-on-Gruppe unverändert geblieben. Daneben ließ sich eine weitere Ketogruppe, außer der Säurefunktion, feststellen. Die hiernach vermutete Konstitution für die Säure VI konnte folgendermaßen bewiesen werden:


CH2OH
C=O
O
TTC normal
I
TTC
invers
CrO3
COOH
V
COOH
HO~CH
IIa+IIb
COOH
C=O
VI
H2N–C–HN–N=C
O
COOH
VIII
H2N–C–NH–N
O
CH2N2
CH2N2
(Äther)
COOCH3
HO~CH
IIIa + IIIb
CrO3
COOCH3
C=O
IX
O
C–O–CH2–C
O
C=O
VII
VI
CH2N2
(Methanol)
COOCH3
O
C
CH2
X

Die Darstellung eines Disemicarbazons VIII sicherte die beiden Ketonfunktionen. Eine Chromsäureoxydation der freien Säure VI ergab die auf anderem Wege bereits dargestellte C-17-Carbonsäure V[20]. Die Oxydation der Methylester der Hydroxysäuren IIIa und IIIb aus der normalen TTC-Reaktion führten zu dem einheitlichen Ketosäureester IX, der auch durch Methylierung mit Diazomethan in ätherischer Lösung zu erhalten war. Damit ist aber die Struktur gesichert.

Bei Behandlung von VI mit Diazomethan in methanolischer Lösung entsteht ein Produkt, dem aufgrund der Elementaranalyse und physikalisch-chemischer Daten die Struktur X zukommen müßte (siehe Anhang).

Die Ketosäure VI zeigt bei circulardichroitischen Messungen einen positiven Cotton-Effekt bei 370 nm, der dem α-Ketocarbonsäurerest an C-17 zugeordnet werden kann. Aufgrund der IR-Messungen, die eine Wasserstoffbrücke sichern, muß nach der Oktantenregel[25] folgende bevorzugte Konstellation des C-17-Substituenten bezüglich des Ringes D vom Steroidgerüst angenommen werden:

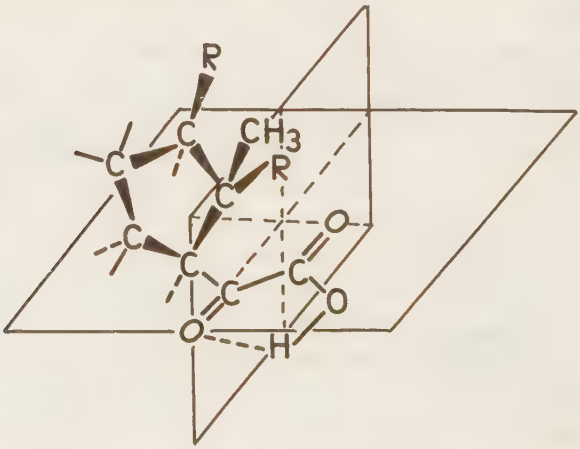


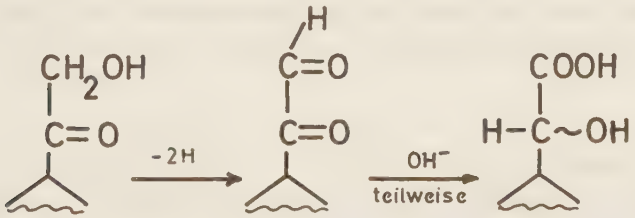
Abb.3

25) W.MOFFITT, R.B.WOODWARD, A.MOSCOWITZ, W.KLYNE und C. DJERASSI, J.Amer.chem.Soc. 83, 4013 (1961).

Eine entsprechende dünnschichtchromatographische und circulardichroitische Untersuchung ließ auch in der normalen Modifikation der TTC-Reaktion die Ketocarbonsäure VI in geringer Menge nachweisen.

Die Aufarbeitung der Neutralphase bei der inversen Modifikation, die weniger Nebenprodukte als die normale Ausführung aufwies, erlaubt es, nach Abtrennung vom Formazan mittels Girardprodukten und anschließender präparativer Dünnschichtchromatographie, das Glyoxal-Derivat IV in etwa 25proz. Ausbeute zu gewinnen. Alle Konstanten stimmten mit dem synthetischen Produkt überein und eine Behandlung mit Natronlauge führt zu dem bereits erwähnten Hydroxysäuregemisch IIa + II b.

Damit ist bei der normalen Ausführung der TTC-Reaktion folgender Mechanismus wahrscheinlich:



Der Weg, welcher zur Ketocarbonsäure führt, ist unklar, da nach der Stöchiometrie bei einem Entzug von 2 Wasserstoff-Atomen durch TTC keine so hohe Ausbeute erreicht werden dürfte.

Ein Reaktionsansatz unter absolut sauerstoffreiem Stickstoff im Molverhältnis Desoxycorticosteron:TTC = 1:1 ergab in analoger Weise und in gleicher Menge dieselbe Ketocarbonsäure. Dies läßt eine unspezifische Oxydation durch Luftsauerstoff im Reaktionsansatz ausschließen. Es könnte vielmehr ein äußerst labiles Zwischenprodukt entstanden

sein, das erst bei der Aufarbeitung weiter oxydiert wird.

Ein erneuter Versuch mit 5fachem Alkaliüberschuß brachte ebenfalls keine wesentliche Veränderung der bisher gefundenen Ergebnisse. Nach der alkalischen Extraktion aus der organischen Formazanphase ließen sich sowohl Keto- als auch Hydroxysäure nachweisen. Im Dünnschichtchromatogramm war zu erkennen, daß sich die Ausbeute an Ketocarbonsäure nicht verändert hatte, vielmehr war das Glyoxal IV in der neutralen Phase unter dem gesteigertem Alkalieinfluß umgelagert worden. In der verbliebenen Formazanphase waren deshalb nur noch geringfügige Mengen an Glyoxal IV zu erkennen.

Bei den üblichen Arzneibuchmethoden werden wegen der schärferen Bedingungen aus den labilen Dehydrierungsprodukten noch Folge- bzw. Umlagerungsderivate entstehen. Wie die nachfolgenden Dünnschichtchromatogramme zeigen, ist aber auch bei den normalen Bestimmungen in jedem Fall die Hydroxycarbonsäure und das Glyoxal nachzuweisen (Fließmittel I).

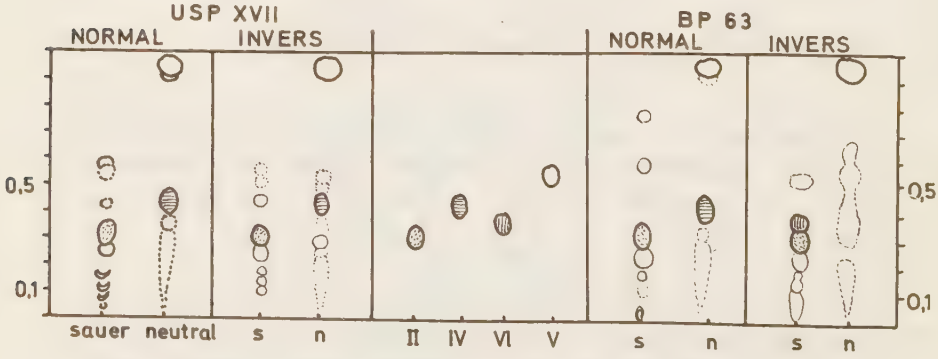
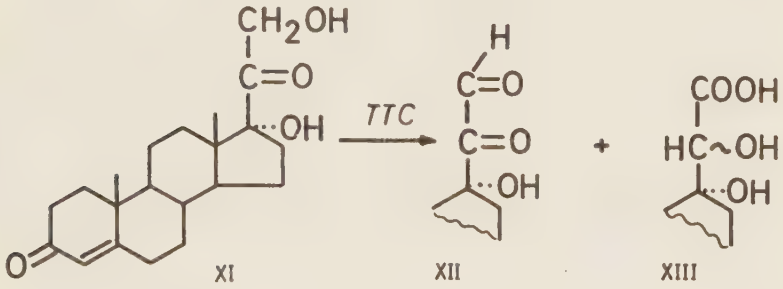


Abb. 4

Umsetzung von Reichsteins Substanz S mit TTC

Die Dehydrierung von Dihydroxyacetonsteroiden mit TTC führt in dem untersuchten Beispiel des 17α-Hydroxydesoxycorticosteron XI (Reichsteins Substanz S[x]) nach Hydrogencarbonatextraktion zu einem dünnschichtchromatographisch-einheitlichen Produkt vom Schmelzpunkt 226-228°. In der Formazanphase konnte als Hauptbestandteil das Glyoxal XII durch dünnschichtchromatographischen Vergleich erkannt werden.



XI XII XIII

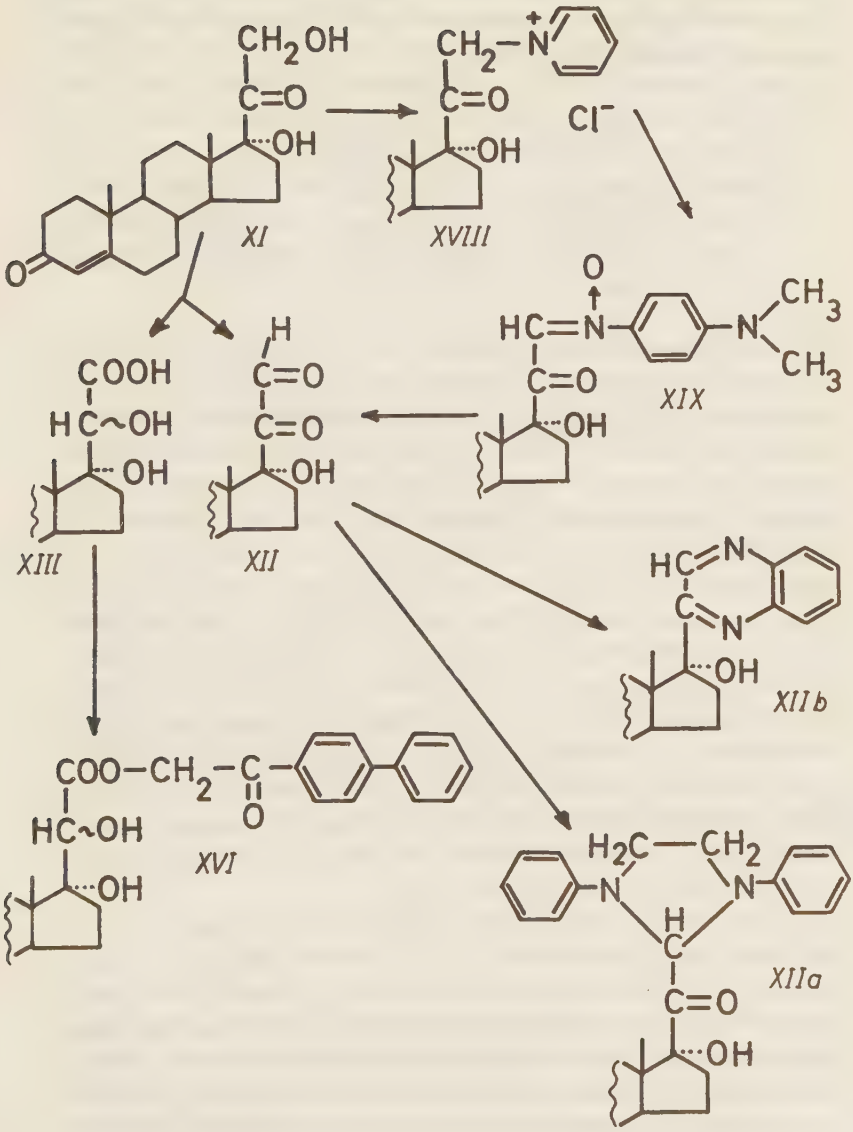
Die beim Desoxycorticosteron bewährte Methode zur Darstellung des entsprechenden Glyoxals durch Kurzzeitdehydrierung mit Kupferacetat nach LEWBART und MATTOX[22] ließ sich unter gleichen Bedingungen nicht auf Reichsteins Substanz S zur Gewinnung von XII übertragen. Da Anwesenheit von Wasser bei dieser Reaktion die Umlagerung zum Ketoaldehyd wesentlich verzögert, wurde mit absolutem Methanol (mit Bleitetraacetat keine Reaktion) und trockener Luft gearbeitet. Nach 2 Stunden war bei verschiedenen Ansätzen noch keine Reaktion eingetreten. Stufenweise Erwärmung bis zur Siedetemperatur und stetiges Durchsaugen von durch konzentrierte Schwefelsäure und Blaugel getrockneter Luft, führte erst nach 20 Minuten zu einer Umsetzung. Dabei trat der Geruch von Formaldehyd, welcher aus Methanol entstanden sein dürfte und eine Farbänderung des Reaktionsansatzes von Blaugrün über eine

x) in der Literatur auch Cortexolon genannt.

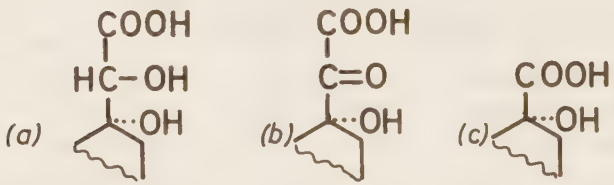
graue Trübung zur blaugrünen Farbe der Ausgangslösung auf. Der entstandene Ketoaldehyd, der den gleichen Rf-Wert wie das Ausgangsprodukt aufwies und eine ähnliche Anfärbung mit p-Toluolsulfonsäure in der Hitze zeigte, konnte von in geringer Menge entstandenen Zersetzungsprodukten durch Umkristallisation aus wässrigem Aceton nicht gereinigt werden. Die Bildung eines Dianilinoäthanderivates XIIa sicherte aber die Aldehydstruktur. In einer Kondensation mit o-Phenylendiamin gelang die Darstellung eines Chinoxalins, das in der Elementaranalyse gute C-, H-Werte, aber keinen völlig befriedigenden N-Wert lieferte. Durch Umkristallisation gelang keine weitere Reinigung und Sublimation im Hochvakuum führte nur zu Zersetzungsprodukten. Eine Reindarstellung des Glyoxals und somit auch des Chinoxalins gelang aber über eine KRÖHNKE-Synthese[26), 27)]: Das α-Ketolsteroid XI wurde über das Tosylat in wasserfreiem Pyridin in das Pyridiniumchlorid XVIII übergeführt, das mit Nitrosodimethylanilin in Gegenwart von Alkali zu dem Nitron XIX kondensiert wurde. Dieses Nitron ließ sich leicht mit Säure in das Glyoxal XII spalten, welches als Chinoxalin XIIb rein gewonnen werden konnte.

IR-Spektrum, Mischschmelzpunkt und chromatographisches Verhalten zeigten Übereinstimmung mit dem Chinoxalin, das nach der Kupferacetatdehydrierung gewonnen wurde. Auf Grund der drastischen Reaktionsbedingungen entstanden jedoch in größerem Maße Nebenprodukte, so daß dieses Verfahren bei Reichsteins Substanz S nicht lohnend erscheint. Andererseits ist bei der KRÖHNKE-Synthese der Schritt XI nach XVIII ebenfalls durch eine geringe Ausbeute (40-50%) charakterisiert.

26) F.KRÖHNKE, Angew.Chem. 65, 605 (1953).
27) W.J.LEANZA, J.P.CONBERE, E.F.ROGERS u. K.PFISTER, J.Amer.chem.Soc. 76, 1691 (1954).


CH2OH
C=O
OH
O
XI
CH2–N+
Cl–
XVIII
O
HC=N
CH3
N
CH3
C=O
OH
XIX
COOH
HC~OH
OH
XIII
H
C=O
C=O
OH
XII
HC=N
C=N
OH
XIIb
COO–CH2–C
O
HC~OH
OH
XVI
H2C–CH2
N
N
H
C
C=O
OH
XIIa

Auf Grund der bei den Ansätzen mit Desoxycorticosteron gefundenen Ergebnisse, mußte mit drei Möglichkeiten einer Säurebildung gerechnet werden:



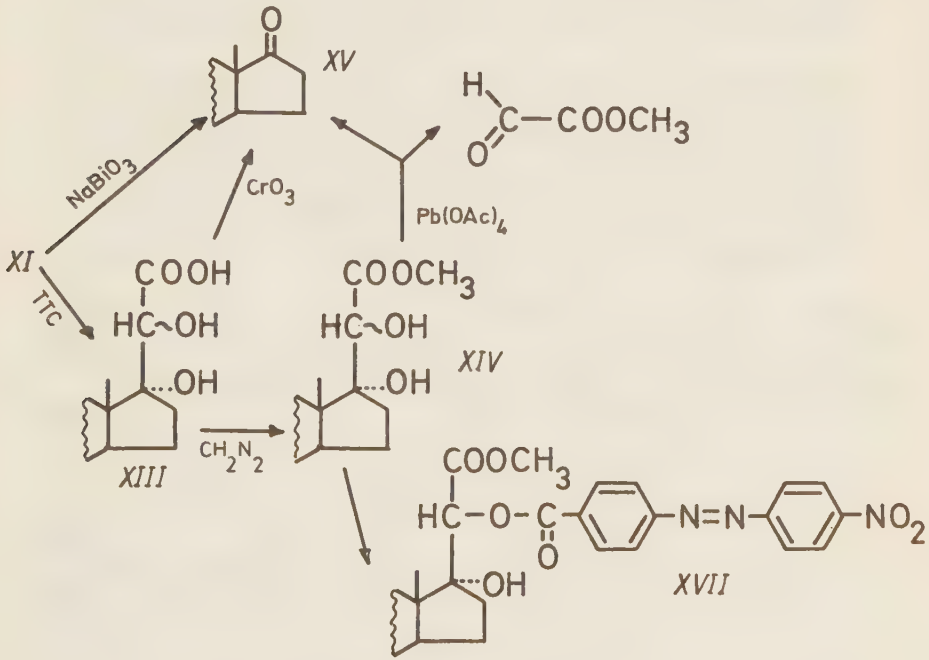
Aus dem Hydrogencarbonatextrakt der TTC-Dehydrierung von Reichsteins Substanz S konnte nach circulardichroitischen Untersuchungen b) mit Sicherheit ausgeschlossen werden, da kein Chromophor auftrat, der dem C-20-Carbonyl hätte zugeordnet werden können. Der p-Phenylphenacylester XVI sicherte die Carboxylgruppe und der p-Nitroazobenzolcarbonsäureester XVII[28] die sekundäre alkoholische Gruppe an C-20. Die Umsetzung zur Glykolsäure XIII verlief in einer Ausbeute von ca. 80% (Mittel aus mehreren Ansätzen; Umsetzungen in doppelten oder dreifachen Ansätzen verringerten die Ausbeuten beträchtlich). Unter Berücksichtigung der geringen Mengen Glyoxal, die in der organischen Formazanphase verblieben sind, kann man den normalen Reaktionsmechanismus der TTC-Dehydrierung, der über den Ketoaldehyd und anschließende Umlagerung zur Hydroxysäure verläuft, auch hier als gesichert ansehen.

Es wurde nun versucht, die Glykolsäure XIII nach Veresterung mit Diazomethan in ihre beiden Epimere zu zerlegen. Papierchromatographisch gelang selbst durch Variation verschiedener BUSH-Systeme[29] keine Auftrennung. Durch Zusatz etwas stärker polarer Lösungsmittel, wie Chloroform oder Essigsäureäthylester trat eine ausreichende Wanderung der Flecke, jedoch keine Trennung ein. Es

---

28) E.HECKER, Chem.Ber. 88, 1666 (1955).
29) J.E.BUSH, Biochem.J. 50, 370 (1952).

liegt nahe, daß sich bei Steroiden, die in Bezug auf das Hydroxyl epimer sind, untereinander Molekülverbindungen bilden. Diese Addukte sollten durch Veresterung der alkoholischen Hydroxygruppen zerlegt werden können, da nur die freien Hydroxyle für das Zustandekommen der Molekülverbindungen verantwortlich sein können. Papierchromatographie des C_{21}-Methyl-C_{20}-p-Nitroazobenzolcarbonsäureesters XVII brachte aber ebenfalls keine Auftrennung der Epimere.

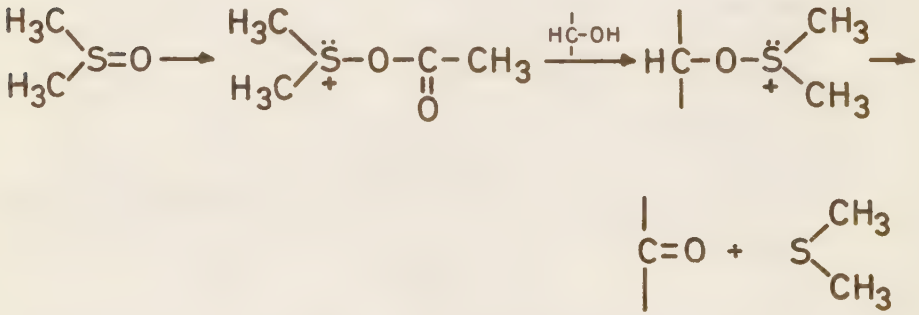


In Analogie zu den Versuchen mit Desoxycorticosteron sollte die entsprechende Glyoxylsäure von Reichsteins Substanz S hergestellt werden. Ein inverser TTC-Ansatz lieferte nach Hydrogencarbonatextraktion nur 5% saure Steroidumwandlungsprodukte und 2 Neutralkörper, von denen mengenmäßig das Glyoxal XII überwog. Durch Dünnschichtchromatographie konnte die Säurefraktion getrennt und

Glykolsäure XIII in geringer Menge nachgewiesen werden.

Bei der Oxydation der Glykolsäure XIII mit Chrom(VI)-oxid in Eisessig (bei Raumtemperatur und Lichtschutz) erfolgte in einer Art Glykolspaltung unter Decarboxylierung die Bildung von Androst-4-en-3,17-dion (XV). Auch eine Chrom(VI)-oxid-Oxydation des Glykolsäuremethylesters XIV führte zu einem analogen Ergebnis. Das Spaltprodukt zeigte gleiche IR-Spektren und die Mischschmelzpunkte mit durch Wismutatoxydation von Reichsteins Substanz S dargestelltem Androst-4-en-3,17-dion zeigten keine Depression.

Eine Dehydrierung unter milderen Bedingungen wurde mit reinem Dimethylsulfoxid in Essigsäureanhydrid nach ALBRIGHT und GOLDMANN[30] erprobt. Hier bilden DMSO und Acetanhydrid ein Acyloxysulfoniumsalz, das mit seinem positiv geladenen Schwefel-Atom einen nucleophilen Angriff auf den Alkohol ausführen kann:



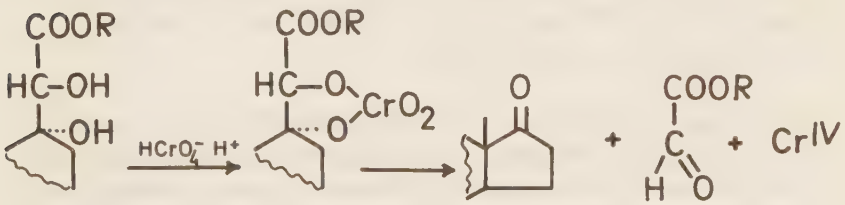
Da auch hier als Endprodukt nur Androst-4-en-3,17-dion isoliert werden konnte, wurden noch selektivere Bedingungen mit N-Bromsuccinimid in frisch gereinigtem Dioxan versucht. Nach 1 Stunde war bei einem stöchiometrischen Ansatz keine Reaktion mehr festzustellen.

---

30) J.D.ALBRIGHT u. L.GOLDMANN, J.Amer.chem.Soc. 87, 4214 (1965).

Eine Oxydation mit dreifachem Überschuß an N-Bromsuccinimid ergab nach 16stündiger Reaktionszeit ein nicht einheitliches Kristallisat aus Benzol. Das Dünnschichtchromatogramm zeigte neben dem Ausgangsester und Androst-4-en-3,17-dion einen dritten Fleck, dessen Abtrennung säulenchromatographisch nicht gelang.

Während Glykolsysteme, die nur sekundäre Hydroxylgruppen enthalten, ohne Spaltung bevorzugt zu Ketonen oxydiert[31] werden, muß bei allen Versuchen zur Oxydation des Hydroxysäuremethylesters XIV dagegen eine Art Glykolspaltung zwischen den benachbarten Hydroxylen an C-17 und C-20 stattgefunden haben. Als Beispiel hierfür soll die Reaktionsfolge mit Chrom(VI)-oxid[32] dienen:



Es ist anzunehmen, daß in unserem Fall die sonst nur bei ditertiären 1,2-Diolen eintretende glykolanaloge Spaltung durch eine sterisch günstige Anordnung der Hydroxygruppen für eine cyclische Chromatbildung bevorzugt abläuft. Bei der üblichen Oxydation der sekundären Hydroxygruppe zum Keton findet als geschwindigkeitsbestimmender Schritt der Angriff auf die C-H-Bindung[33] statt. Dieser wird hier aber weitgehend zurückgedrängt.

---

31) J.ROCEK u. F.H.WESTHEIMER, J.Amer.chem.Soc. 84, 2241 (1962).
32) K.B.WIBERG, Oxidation in Organic Chemistry, Academic Press, New York 1965 (S. 171).
33) F.H.WESTHEIMER u. N.NICOLAIDES, J.Amer.chem.Soc. 71, 25 (1949).

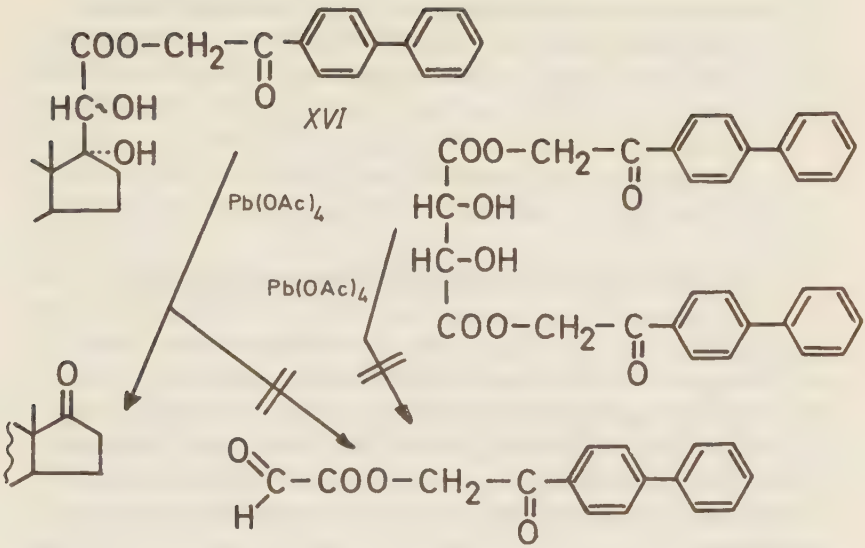
Auf klassischem chemischem Wege scheint also eine spezifische Oxydation des C-20-Hydroxyls nicht möglich zu sein. Es wurde deshalb eine enzymatische Dehydrierung mit 20ß-Hydroxysteroid-NAD-oxido-reduktase (Boehringer Mannheim[x]) durchzuführen versucht. Dabei wird die Geschwindigkeit der Dehydrogenase durch die Substituenten in den verschiedenen Stellungen beeinflußt. Während die 17α-Hydroxygruppe geschwindigkeitserhöhend wirkt, setzen die C-21-Substituenten die Geschwindigkeitsrate herab. Leider wirkte sich die Abhängigkeit der biochemischen Dehydrierung von der C-21-Carboxymethylgruppe so sehr hemmend aus, daß keine Reaktion eintrat.

Zum endgültigen Strukturbeweis sollte der Steroidglykolsäure-p-phenylphenacylester XVI mit Bleitetraacetat gespalten und die Reaktionsprodukte mit authentischen Materialien verglichen werden.

Es gelang jedoch nicht, Glyoxylsäure-p-phenylphenacylester durch Glykolspaltung von Weinsäure-di-p-phenylphenacylester darzustellen. Bei der Spaltung wurden nur Zersetzungsprodukte erhalten, wobei ausschließlich 4-Phenylbenzoesäure XXI isoliert werden konnte.

---

x) Wir danken Herrn Dr. G. Näher, Boehringer Mannheim, für die Durchführung der Versuche.



Dagegen gelang es, Weinsäuredimethylester quantitativ mit Bleitetraacetat zu spalten. Der dabei resultierende Glyoxylsäuremethylester ermöglichte nach Stabilisierung der empfindlichen Ketoaldehydstruktur mit Methanol als Halbacetal einen dünnschicht- und gaschromatographischen Vergleich.

Die Bleitetraacetatspaltung des Steroidglykolsäuremethylesters XIII gelang in reinem Chloroform. Nach der Konzentrierung des Esters konnte gaschromatographisch auf einer 3 m K-Säule mit dem synthetisierten Vergleichsmaterial Uebereinstimmung festgestellt werden. Ebenso gelang der dünnschichtchromatographische Vergleich auf Kieselgel HF-Platten. Ein guter Hinweis für den entstandenen Glyoxylsäuremethylester war auch die Farbreaktion[34)]

34) WEYGAND-HILGETAG, Organisch-chemische Experimentierkunst, 3. Aufl., J.Ambr.Barth-Verlag, Leipzig 1964 (S. 963).

mit konzentriertem Ammoniak, der die organische Lösung sofort gelb und nach wenigen Minuten tiefrot verfärbte.

M o d e l l v e r s u c h e

Darstellung von 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon

Zur Untersuchung des Mechanismus und insbesondere der Entstehung der Ketocarbonsäure sollten Modellversuche an einfachen α-Ketolen, die keine weiteren funktionellen Gruppen aufweisen durften, durchgeführt werden. Um auch hier kristalline Produkte erwarten zu können, wurde die Darstellung von 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon XX angestrebt.

Die Methode von STACY u. a.[35], die Alkyldihydroxyacetone als Corticoidanaloga synthetisierten und dazu die entsprechenden Bromide mit Bariumhydroxid in wässrigem Dioxan verseiften, führte bei 4-Phenylphenacylbromid nicht zu dem gewünschten Ergebnis. Nach 1 Stunde Reaktionszeit ließ eine deutliche Rotbraunfärbung schließen, daß der eventuell gebildete Alkohol sich unter dem Alkalieinfluß sofort zersetzt hatte. Bei der Aufarbeitung wurde ein Gemisch von 4 Stoffen erhalten, das sich über eine neutrale Aluminiumoxidsäule nur unwesentlich reinigen ließ.

Die Verseifung des Essigsäure-p-phenylphenacylesters XXIV mit Pottasche in methanolischer Lösung nach SUTTER und SCHLITTLER[36], die auf diese Weise DL-ß-Isopropyl-δ-hydroxylävulinsäure schonend dargestellt hatten, ließ hier

---

35) G.W.STACY, M.S.KHAN, H.MOE, C.R.BRESSON u. S.L.RAZNIAK, J.org.Chemistry 31, 1757 (1966).
36) M.SUTTER u. E.SCHLITTLER, Helv.chim.Acta 30, 403 (1947).

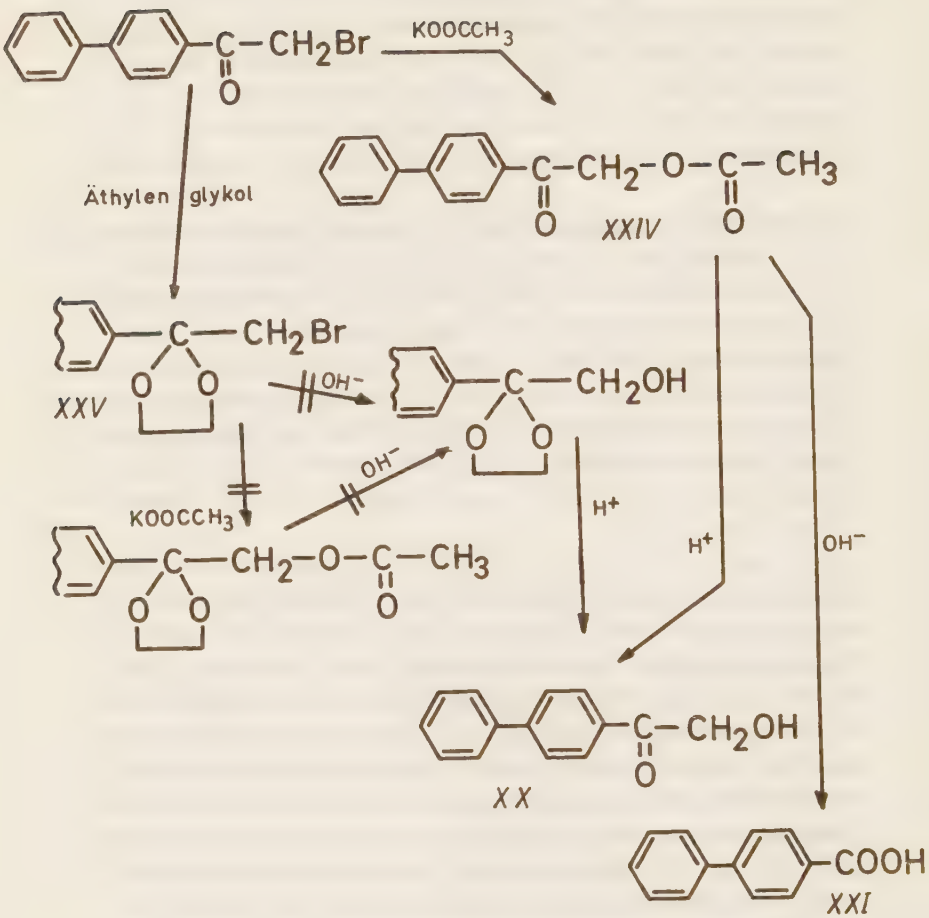
ein anderes Produkt entstehen. Nach Zugabe von Kaliumcarbonat zu dem unter Stickstoffatmosphäre gehaltenen Reaktionsansatz trat augenblicklich Verfärbung ein. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Chloroform ließ sich daraus ein reiner Stoff gewinnen, welcher das gleiche IR-Spektrum wie das durch Bleitetraacetatspaltung aus Weinsäure-di-phenylphenacylester erhaltene Produkt zeigte.

Weitere Versuche, das α-Ketol XX unter anderen Bedingungen, z. B. Verseifung mit methanolischer Hydrogencarbonatlösung, wässriger oder alkoholischer Lauge unterschiedlicher Konzentrationen, bei Raumtemperatur oder unter Kühlung, darzustellen, ergaben stets Mischungen aus mehreren Komponenten, die weder säulenchromatographisch noch durch Kristallisation getrennt werden konnten. Bei allen Versuchen gelang lediglich die Isolierung des Sekundärproduktes 4-Phenylbenzoesäure XXI (siehe Formelschema Seite 30).

Aus diesen Versuchen ging eindeutig hervor, daß eine Darstellung des alkaliempfindlichen Ketols, bei der in letzter Stufe eine Behandlung mit Basen notwendig war, nicht gelingen konnte. Deshalb sollte die Ketogruppe des 4-Phenyl-phenacylbromids durch Ketalisierung geschützt, dann das Halogen durch Alkali nucleophil ausgetauscht und nunmehr die Ketalgruppe sauer entfernt werden. Überraschenderweise wurde aber nach der Ketalbildung die Einführung der Hydroxygruppe nicht mehr erreicht. Selbst nach 5 Stunden Kochen mit methanolischer Kalilauge war keine Umsetzung festzustellen.

Andererseits gelang es auch unter verschärften Bedingungen nicht, den Essigsäure-4-phenylphenacylester XXIV zu ketalisieren, noch das Ketalbromid XXV mit Kaliumacetat zum entsprechenden Ester umzusetzen.

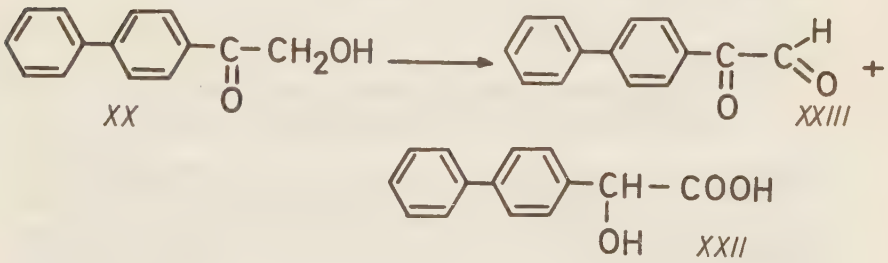
Zum Erfolg führte schließlich die saure Esterverseifung



von XXIV. Mit katalytischen Mengen 70proz. Perchlorsäure in Dioxan wurde nach 12 Stunden eine 50proz. Verseifung erzielt. Mit 40proz. Schwefelsäure konnte die Ausbeute des α-Ketols XX bei Raumtemperatur nach 12 Stunden sogar auf 90% gesteigert werden.

TTC-Reaktion von 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon

Die Umsetzung des 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketons XX mit TTC in Methylenchlorid im Molverhältnis Ketol:TTC = 1:2 ergab als Rohprodukt nach der üblichen Aufarbeitung in 25proz. Ausbeute 4-Phenyl-phenylglykolsäure XXII, die durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Äther/Pentan rein erhalten werden konnte. Übereinstimmung im IR-Spektrum, Mischschmelzpunkt und Rf-Wert mit authentischer Säure sicherte die Struktur.



In der organischen Formazanphase konnte durch Rf-Vergleich 4-Phenyl-phenylglyoxal XXIII als Hauptprodukt erkannt werden. Zur Identifizierung des α-Ketoaldehyds XXIII wurden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck abgezogen und der Rückstand mit methanolischer Kalilauge umgelagert. Nach üblicher Aufarbeitung wurden in 70proz. Ausbeute 4-Phenyl-phenylglykolsäure, die mit geringen Mengen p-Phenylbenzoesäure anfiel, erhalten.

Die Zugabe der quartären Base in inverser Reihenfolge zu dem TTC-Reaktionsansatz lieferte als Hauptprodukt, neben wenig 4-Phenylbenzoesäure, ebenfalls die Glykolsäure XXII.

Dagegen zeigte die Umsetzung des Ketols XX mit TTC in absolutem Methanol in der direkten Chromatographie des

Ansatzes nur Glyoxal mit einer geringen Verunreinigung von 4-Phenylbenzoesäure an. Letztere ließ sich leicht mit Hydrogencarbonatlösung extrahieren. Erst die Umsetzung mit methanolischer Kalilauge ergab die Glykolsäure XXII; daneben war aber in ungefähr gleicher Menge die 4-Phenylbenzoesäure entstanden.

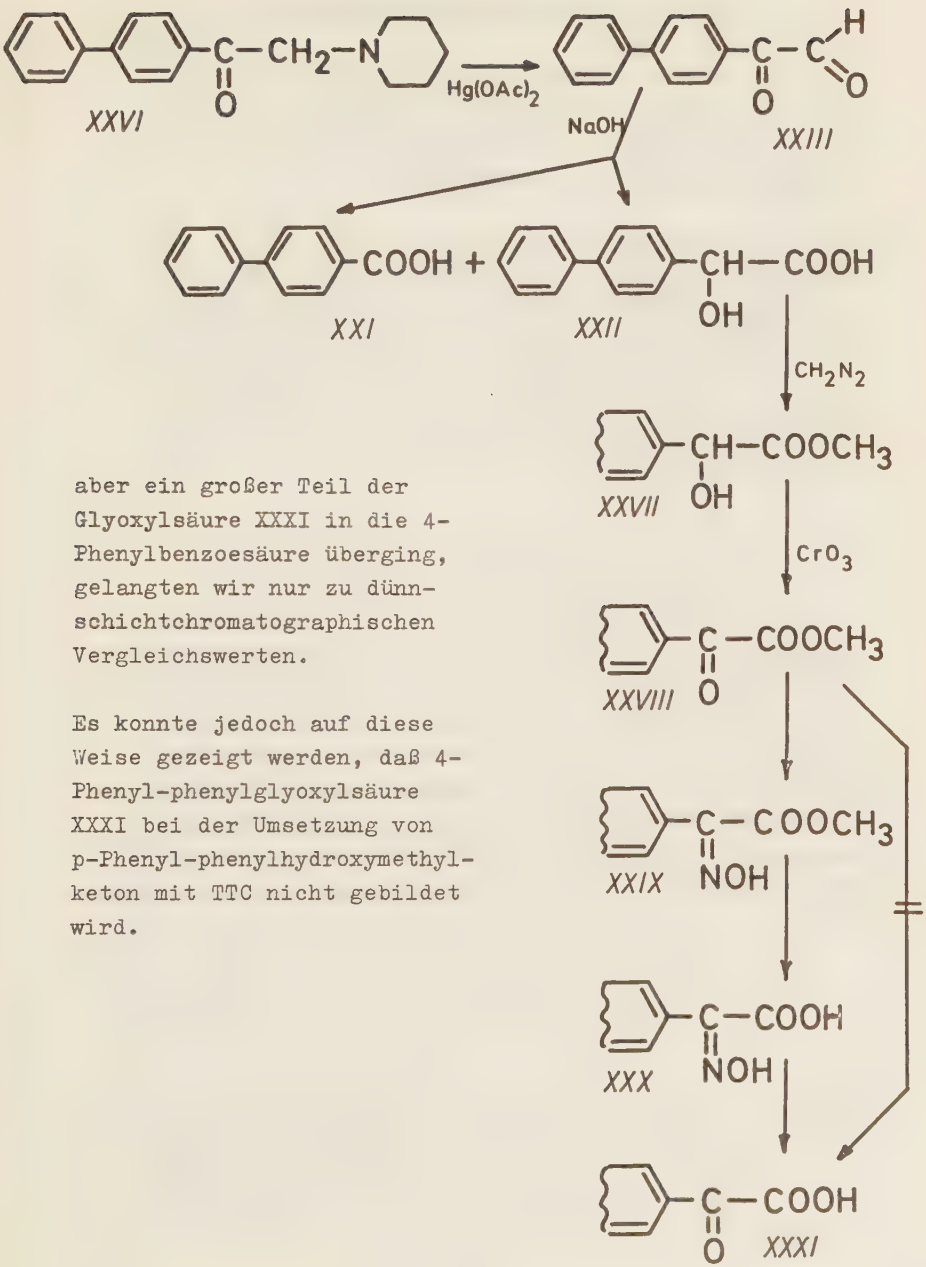
Das wiederholte Auftreten der 4-Phenylbenzoesäure, insbesondere auch bei der Umlagerung des Glyoxals zur Hydroxysäure, weist auf eine starke Labilisierung der Seitenkette durch das Diphenylsystem hin, die mit einer decarboxylierenden Oxydation einhergeht.

Darstellung der Vergleichssubstanzen zu den 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon-Versuchen

4-Phenylphenacylbromid wurde mit Piperidin zum Aminoketon XXVI kondensiert. Anschließende Quecksilber(II)-Acetatspaltung in 5proz. Essigsäure ergab in guter Ausbeute 4-Phenyl-phenylglyoxal XXIII, das als Disemicarbazon charakterisiert wurde. Die Umlagerung mit methanolischer Natronlauge lieferte zu gleichen Teilen 4-Phenyl-phenylglykolsäure XXII und 4-Phenylbenzoesäure XXI.

Durch präparative Schichtchromatographie wurden die Säuren XXI und XXII getrennt. Nach Veresterung mit Diazomethan wurde die Glykolsäure XXII mit Chrom(VI)-oxid in den Glyoxylsäuremethylester XXVIII übergeführt, der als Oxim XXIX identifiziert wurde. Die direkte Verseifung des Esters XXVIII führte zu einem unreinen Produkt.

Bei der hydrolytischen Spaltung des Oximesters XXIX wurde ausschließlich die Oximsäure XXX erhalten. Die Oximgruppe in XXX ließ sich erst nach Kochen am Rückfluß mit konzentrierter Salzsäure entfernen; da hier



aber ein großer Teil der Glyoxylsäure XXXI in die 4-Phenylbenzoesäure überging, gelangten wir nur zu dünnschichtchromatographischen Vergleichswerten.

Es konnte jedoch auf diese Weise gezeigt werden, daß 4-Phenyl-phenylglyoxylsäure XXXI bei der Umsetzung von p-Phenyl-phenylhydroxymethylketon mit TTC nicht gebildet wird.

Darstellung von Benzoylcarbinol

Die Labilität von 4-Phenyl-phenylglykolsäure XXII infolge des Diphenylanteiles und die damit verbundene leichte Artefaktbildung ließ eine analoge Untersuchung mit dem Benzoylcarbinol wünschenswert erscheinen.

Dazu wurde ω-Bromacetophenon mit Kaliumacetat in den Essigsäureester übergeführt und unter schonenden Bedingungen mit Kaliumcarbonat in Methanol/Wasser verseift. Das resultierende α-Ketol konnte durch Umkristallisation gereinigt werden. Nach einer Woche zeigte eine Verfärbung der unter Stickstoff aufbewahrten Substanz deren beginnende Zersetzung an, weshalb stets frisch hergestelltes Hydroxyketon umgesetzt wurde.

Umsetzung von Benzoylcarbinol mit TTC

Die Umsetzung von Benzoylcarbinol mit TTC unter den bei den Steroidversuchen beschriebenen Bedingungen ergab sowohl bei normalen als auch inversen Ansätzen allein Phenylglyoxal (Abb. 5). Die vorhandene Alkalikonzentration reichte in dem lipophilen Lösungsmittel Methylenchlorid offensichtlich nicht aus, um bei Eiskühlung die Umlagerung in Mandelsäure herbeizuführen, welche mit methanolischer Kalilauge bei Raumtemperatur leicht verläuft.

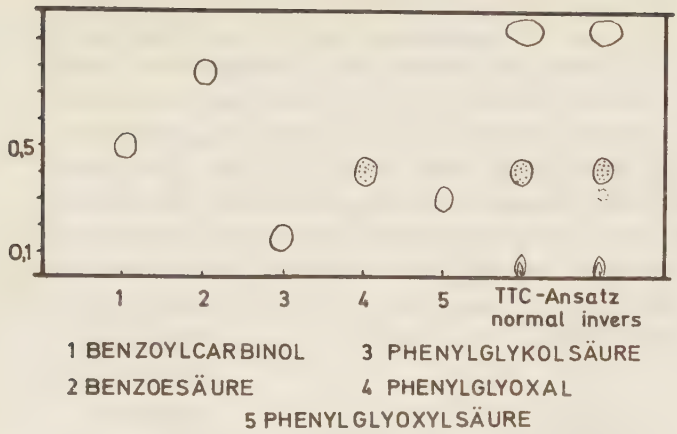


Abb.5

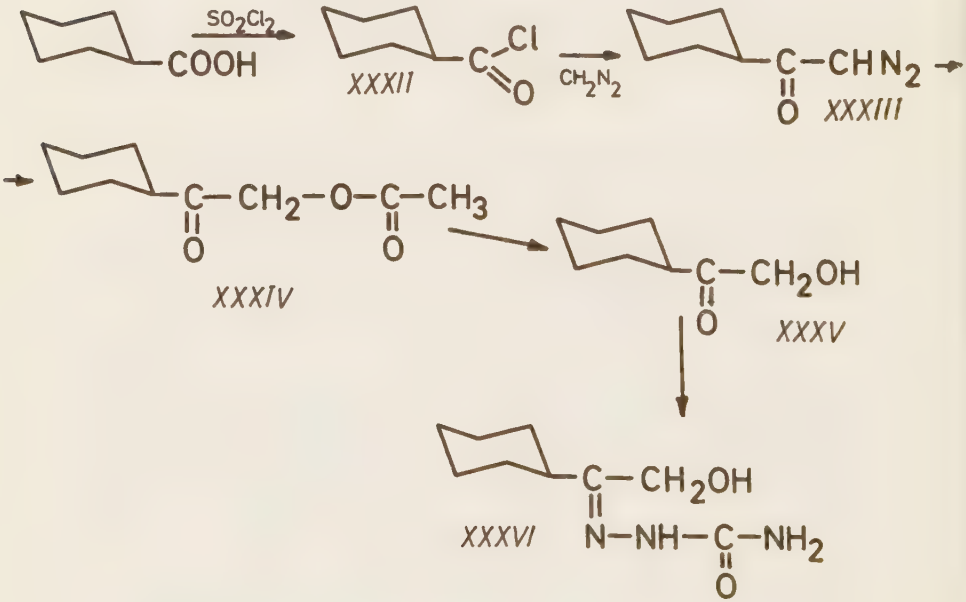
Darstellung von Cyclohexyl-hydroxymethylketon

Der Verlauf der TTC-Reaktion an aromatisch substituierten α-Ketolen zeigt keine völlige Analogie zu den α-Ketolsteroiden. Daher sollte die TTC-Reaktion noch an hydroaromatischen Modellsubstanzen studiert werden.

Die Darstellung des Cyclohexyl-hydroxymethylketons XXXV erfolgte in einer ARNDT-EISTERT-Synthese[36), 37), 38)]. Cyclohexancarbonsäure wurde mit überschüssigem Thionylchlorid in das Säurechlorid XXXII übergeführt. Es entstand dabei ein öliges Produkt, das in Geruch und Verhalten stark dem Benzoylchlorid ähnelte. Das in absolutem Äther gelöste Säurechlorid wurde zu einer überschüssigen ätherischen Diazomethanlösung zugetropft.

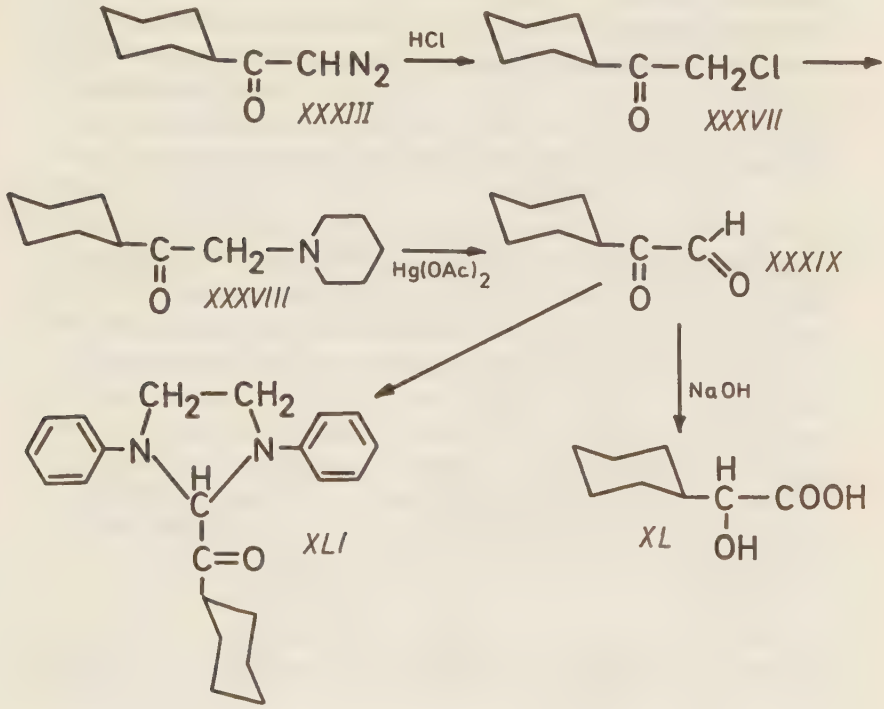
37) F.ARNDT, B.EISTERT u. W.PARTALE, Ber.dtsch.chem.Ges. 60, 1364 (1927).
38) F.ARNDT u. B.EISTERT, Ber.dtsch.chem.Ges. 68, 204 (1935).

Nach der Aufarbeitung hinterblieb eine gelbe ölige Lösung, die auf 50° erwärmten Eisessig getropft und dadurch in den Essigsäureester XXXIV übergeführt wurde. Die Verseifung des Esters gelang nach dem Verfahren von SUTTER und SCHLITTLER[36] mit wässrig-methanolischer Kaliumcarbonatlösung unter Stickstoff und Kühlung auf 15°. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das Cyclohexyl-hydroxymethylketon XXXV durch Kugelrohrdestillation gereinigt. Das in guter Ausbeute angefallene Ketol erstarrte im Kühlschrank und konnte als Semicarbazon XXXVI charakterisiert werden.



Ein Teil des Diazoketons XXXIII wurde mit trockenem Chlorwasserstoffgas in das Cyclohexyl-chlormethylketon XXXVII übergeführt und anschließend mit Piperidin zum Aminoketon XXXVIII kondensiert. Quecksilber(II)-Acetatspaltung lieferte in zuvor beschriebener Weise das

Cyclohexylglyoxal XXXIX, das als Dianilinoäthanderivat XLI charakterisiert und gereinigt wurde.



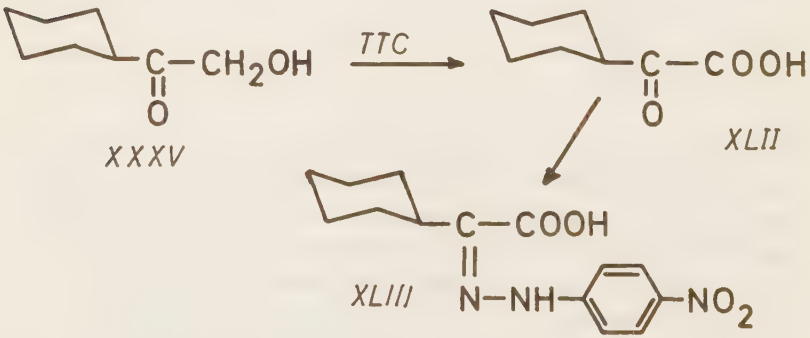
Beim Stehen über Nacht trat beim öligen Glyoxalrohprodukt XXXIX teilweise Kristallisation ein. Diese Kristalle wurden abfiltriert und gewaschen. Das IR-Spektrum zeigte praktisch keine Bande mehr im Carbonylbereich, sodaß eine Poymerisierung stattgefunden haben dürfte. Offensichtlich beschleunigt die Aufarbeitung des Quecksilber(II)-Acetatspaltproduktes in trockenem Methylenchlorid diesen Prozeß, da beim Arbeiten in trockenem Äther dieser Effekt nicht beobachtet werden konnte.

Durch Umlagerung mit methanolischer Natronlauge wurde schließlich die Cyclohexylglykolsäure XL dargestellt.

Umsetzung von Cyclohexylhydroxymethylketon mit TTC

Nach der Reaktion von Cyclohexyl-hydroxymethylketon mit TTC unter denselben Bedingungen, wie bei den Steroidversuchen beschrieben, zeigte das Dünnschichtchromatogramm 2 deutliche und 3 sehr schwache Flecke (abgesehen von den am Start sitzenden TTC- bzw. Formazanartefakten und dem kurz vor der Front befindlichen Formazan).

Die entsprechende Extraktion mit Hydrogencarbonatlösung ergab einen deutlichen, mit Dinitrophenylhydrazin gelb detektierbaren Fleck, Rf 0,37 im Fließmittel Chloroform/Ameisensäure 85+15, dessen Ausbeute bei einem stöchiometrischen Molansatz 45% betrug, berechnet als Glyoxylsäurederivat. Daneben zeigte der Rf 0,77 eine geringe Verunreinigung von Cyclohexancarbonsäure an. In der Formazanphase verblieb ein orangegelb detektierter Fleck, Rf 0,51, der mittels Rf-Vergleich als Glyoxal XXXIX bestimmt und durch Umlagerung in die Glykolsäure XL charakterisiert wurde.

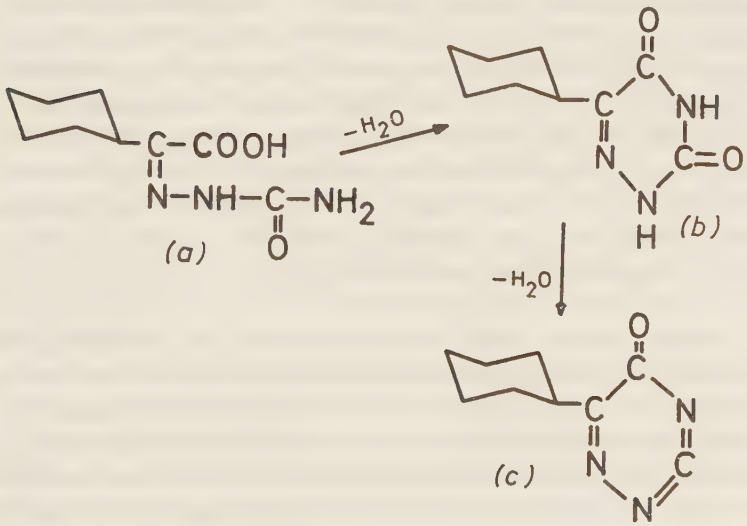


Das stark hygroskopische saure Extraktionsprodukt ließ sich im Vakuumexsikkator über Diphosphorpentoxid zur Kristallisation bringen. Ein 4-Nitrophenylhydrazon XLIII sicherte die Carbonylfunktion, sodaß es sich bei der TTC-Dehydrierung von Cyclohexyl-hydroxymethylketon um die

Bildung von Cyclohexylglyoxylsäure XLII handeln muß.

Ansätze im Molverhältnis Ketol:TTC = 1:2 erhöhten nur die Ausbeute an Glyoxylsäure auf 55% und inverse Ansätze brachten ebenfalls keine Veränderung der gefundenen Ergebnisse.

Beim Versuch, ein Semicarbazon aus der Cyclohexylglyoxylsäure darzustellen, wurde eine Verbindung erhalten, deren C-, H-, N-Werte für eine Wasserabspaltung sprechen, was sich durch intramolekularen Ringschluß und anschließende weitere Wasserabspaltung erklären ließe. Die Elementaranalyse stimmte mit der Struktur (c) überein.



Umsetzung von Acetol (Hydroxyaceton) mit TTC

Aquimolekulare Mengen einer 50proz. handelsüblichen Lösung von Hydroxyaceton und TTC wurden unter den bekannten Bedingungen zur Reaktion gebracht. Das Acetol ließ dabei stark hydrophile Reaktionsprodukte erwarten,

sodaß die Extraktion mit Hydrogencarbonatlösung erleichtert wurde. Das praktisch gleichartige Verhalten und eine schlecht durchzuführende Detektion ließen die Dünnschichtchromatographie als Analysenmethode ausscheiden. Auch das von STAHL[39] angegebene Verfahren der Trennung über Ammoniumsalze ergab keine reproduzierbaren Werte. So wurde eine Untersuchung der sauren Extraktionsprodukte nach Veresterung mit Diazomethan auf einer 4 m K-Säule gaschromatographisch vorgenommen, nachdem authentische Proben von den zu erwartenden Milch- und Brenztraubensäuremethylestern, sowie dem Methylglyoxal eine gute Auftrennung ergaben.

Die Analyse der TTC-Dehydrierungsprodukte zeigte jedoch keine Übereinstimmung mit den Vergleichssubstanzen. Zur Absicherung, daß bei der Acetol-TTC-Dehydrierung keine Milchsäure entstanden ist, wurde zu einem Vergleichsansatz 150 mg Milchsäure zugesetzt. Nach analoger Aufarbeitung, d. h. jeweils nach 5stündiger Perforation mit Äther und anschließender Veresterung mit Diazomethan, ließ sich der gaschromatographische Nachweis des Milchsäureesters erbringen, sodaß demzufolge bei der Dehydrierung die Bildung des Sekundärproduktes Milchsäure definitiv ausgeschlossen werden kann.

Es gelang jedoch erwartungsgemäß nicht, den Nachweis der Brenztraubensäure nach der Hydrogencarbonatextraktion zu führen, weil Brenztraubensäure selbst mit TTC reagiert, wie in einem Blindversuch gezeigt werden konnte. Nach SIMON-AWE[40] ließ sich auch kein Acetaldehyd nachweisen, aber es liegt nahe, daß dieser in dem alkalischen Milieu des Reaktionsansatzes sofort eine Aldol-Addition eingegangen ist.

Aufgrund dieser Darlegungen dürfte also bei der Acetol-TTC-Dehydrierung mit der primären Bildung von Brenz-

---

39) E.STAHL, Dünnschicht-Chromatographie, 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin 1967 (S. 620).
40) L.SIMON, J.pharm.chim. 7, 136 (1898); W.AWE, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 90, 73 (1951).

traubensäure gerechnet werden, welche dann unter den Reaktionsbedingungen weiter abgebaut wird.

Deutung der Versuche

Die Beständigkeit von aromatischen Verbindungen kann durch geeignete Substituenten am Kern mehr oder minder verändert werden. Diese Gruppen können sich chemisch völlig anders verhalten, wenn sie an einem hydrierten Ring fixiert sind.

Infolge der aufschlußreichen Verschiebungen im C=O-Valenzschwingungsbereich[41] bei den spektralphotometrischen Untersuchungen lassen die Modellsubstanzen einige Aussagen über das reaktive Verhalten von α-Ketolen und deren Dehydrierungsprodukten zu. Da die Valenzschwingung einer Bindung nicht nur von den Massen der gebundenen Atome, sondern auch von den Bindungskraftkonstanten abhängt, muß sich diese Kraftkonstante der C=O-Valenzschwingung mit den benachbarten Substituenten ändern.

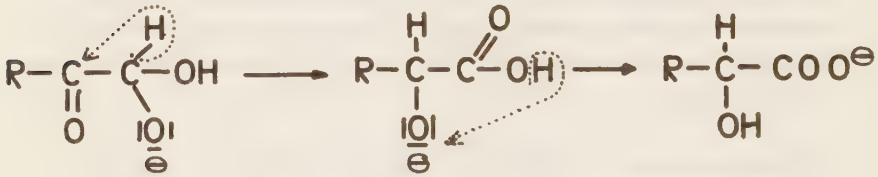
Eine niedrigere Schwingungsfrequenz der C=O-Bindung weist auf eine Schwächung dieser Bindung hin, die durch den Entzug von Elektronen am Kohlenstoff-Atom erklärt wird. Diesem wird dadurch eine stärker positive Partialladung erteilt, was schließlich zu einer stärkeren Polarisierung der Carbonylgruppe führt. Da nun die C=O-Bindung im Cyclohexylhydroxymethylketon fester ist (C=O Benzoylcarbinol 1680 cm^{-1}; C=O Cyclohexylhydroxymethylketon 1710 cm^{-1}), liegt hierin wahrscheinlich die Ursache, warum eine Umlagerung zur Hydroxysäure nicht eintritt.

Deutet man den Reaktionsmechanismus bei der Umlagerung von Phenylglyoxal zu Mandelsäure als Spezialfall einer

---

41) E.S.GOULD, Mechanismus und Struktur in der organischen Chemie, 2. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1964 (S. 93 ff.).

intramolekularen Cannizzaro-Reaktion, bei der eine Hydridübertragung im primär gebildeten Aldehyd-Hydroxid-Addukt vorliegt, so muß beim Cyclohexylderivat mit einer Erschwerung dieser Reaktion gerechnet werden, d. h. das Hydrid-Anion tendiert nicht so sehr zum schwächer positiven C-Atom der Ketogruppe.



Allerdings scheinen nur sehr starke elektronische Einflüsse von Bedeutung zu sein, denn das Benzoylcarbinol liefert unter den Standardbedingungen[x], ebenso wie das Cyclohexyl-hydroxymethylketon, keine Hydroxysäure. Erst beim 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon ergibt die TTC-Reaktion in mäßiger Ausbeute die α-Hydroxycarbonsäure.

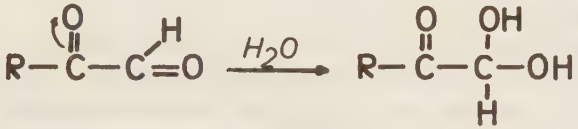
Nach diesen Modellversuchen dürfte bei der Dehydrierung von Desoxycorticosteron nur das entsprechende Glyoxal und die Ketocarbonsäure entstehen. Tatsächlich tritt aber neben diesen Stoffen in beträchtlicher Menge die Hydroxysäure auf. Offensichtlich spielen hier zusätzlich sterische Einflüsse eine wesentliche Rolle, wobei an eine Hinderung der freien Rotation der Seitenkette zu denken ist.

---

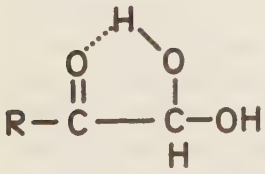
x) Bei den Standardbedingungen wurde mit Benzyltrimethylammoniumhydroxid als Base gearbeitet. Unter dem Einfluß von Alkalihydroxid erfolgt eine raschere Umlagerung[41] des Glyoxals mit anderen quantitativen Ergebnissen.

Bei den Reichstein S-Experimenten trat nun zusätzlich der Einfluß der 17α-Hydroxy-Gruppe auf.

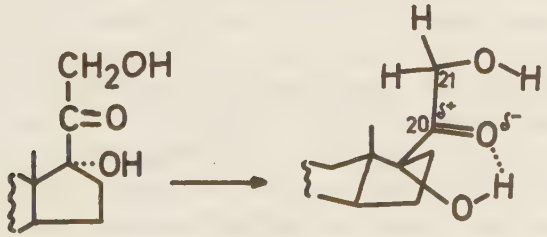
Es ist bekannt, daß elektronenanziehende Substituenten, z. B. die Ketogruppe im Glyoxal eine Hydratisierung der Aldehydfunktion erleichtern und das gebildete Hydrat stabilisieren:



Diese Hydrate werden wahrscheinlich durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Hydroxygruppen und dem elektronegativen Sauerstoffatom am benachbarten α-Kohlenstoffatom zusätzlich stabilisiert:



Die bevorzugte Bildung der Glykolsäure XIII bei den Reichstein Substanz S-Dehydrierungsansätzen und das Fehlen der Glyoxylsäure ist wahrscheinlich in dem Einfluß dieser C-17-Hydroxygruppe zu suchen. Die relative Acidität des R-OH müßte eigentlich dem C-20-Atom eine geringere positive Partialladung ver-

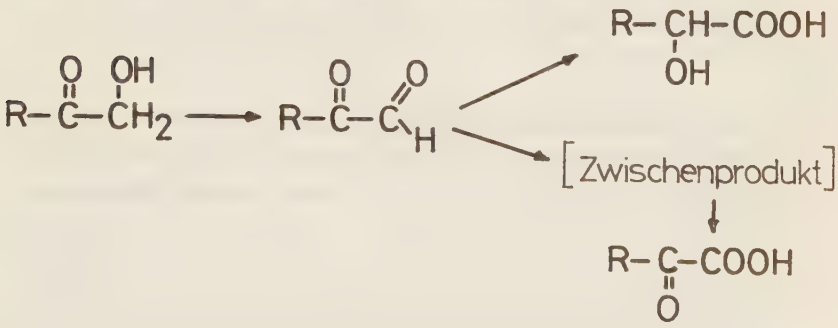


leihen und damit ähnlich dem Cyclohexylhydroxymethylketon eine bevorzugte Bildung der Ketosäure bewirken. Die gefundenen Ergebnisse lassen aber eine Wasserstoffbrückenbindung von 17α-OH zu C-20=O annehmen, was zu einer verstärkten Aktivierung der C-20-Ketogruppe führt. Die daraus resultierende stärkere Positivierung des C-20-Atoms kann jetzt die intramolekulare Cannizzaro-Reaktion erleichtern.

Insgesamt entsteht bei allen Versuchen das dem α-Ketol entsprechende Glyoxal, beim Benzoylcarbinol sogar praktisch ausschließlich. Damit ist mit Sicherheit als 1. Stufe bei der TTC-Dehydrierung des Hydroxyketons die Bildung des Ketoaldehyds anzusehen. Dieser Reaktionsschritt ist weitgehend unabhängig von elektronischen und sterischen Faktoren. Dagegen scheinen für die Folge-Reaktionen, neben der unterschiedlichen Stabilität der Glyoxale, diese beiden Einflüsse wesentlich zu sein.

Ist der Ketoaldehyd beständig, so kann er zum größten Teil, wie das Phenylglyoxal zeigt, erhalten bleiben. Ist eine Umlagerung zur α-Hydroxysäure gegeben, so verläuft diese Reaktion je nach der Struktur des Moleküls mehr oder weniger weit zur Seite der Säure hin. Bei beschränkter Stabilität des Ketoaldehyds und keiner Möglichkeit zur Umlagerung in die Hydroxysäure tritt nach der Aufarbeitung die entsprechende Ketocarbonsäure auf. Dabei kann mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß es sich bei der Bildung der Ketosäure um eine Weiteroxydation der Hydroxysäure handelt. Es entsteht vielmehr bei der Dehydrierung von Cyclohexyl-hydroxymethylketon überhaupt keine entsprechende Hydroxycarbonsäure, sondern das Glyoxylsäurederivat. Weiterhin übersteigt die Ausbeute an α-Ketocarbonsäure bei der Dehydrierung des Desoxycorticosterons den stöchiometrischen Verbrauch an TTC und es kann keine zusätzliche Ausbeutesteigerung durch einen Überschuß an TTC erreicht werden.

Damit handelt es sich bei der Umsetzung zur Ketocarbonsäure um einen synchron ablaufenden Prozeß, wobei die unter Sauerstoffausschluß durchgeführten Versuche den Schluß zulassen, daß die Oxydation erst bei der Aufarbeitung erfolgt. Das Reaktionsschema kann also folgendermaßen formuliert werden:



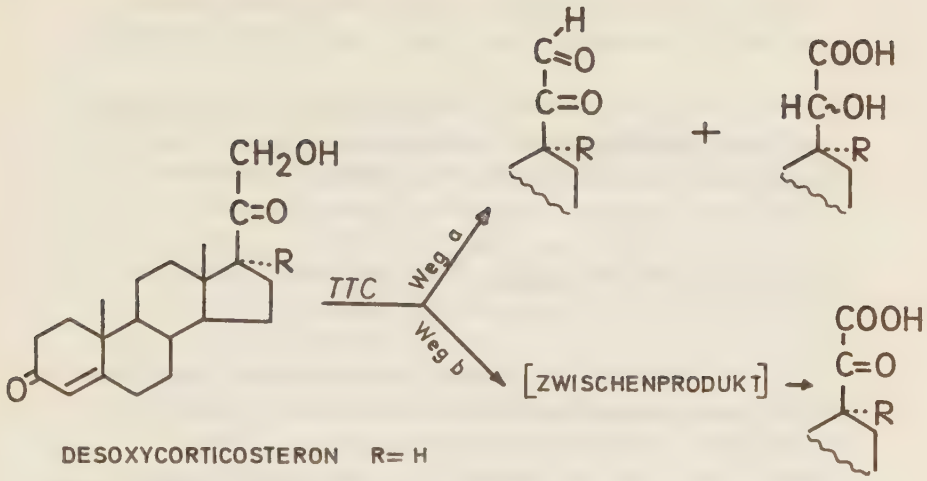
Z u s a m m e n f a s s u n g

Die Dehydrierungs- bzw. Folgeprodukte bei der Umsetzung von α-Ketolsteroiden mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) in alkalischem Milieu wurden isoliert und ihre Struktur durch vergleichende Synthesen bewiesen. Um eine Artefaktbildung möglichst gering zu halten, wurden einheitliche Bedingungen, auch was die Zugabe der Reagenzienfolge betrifft, festgelegt.

Zur Aufklärung des Reaktionsmechanismus der TTC-Reaktion unter dieser Standardisierung wurden zusätzlich vergleichende Studien an einfachen aromatischen und alicyclischen α-Ketolen vorgenommen.

1) Die Reaktion von Desoxycorticosteron mit TTC verläuft nicht einheitlich. Der eine Weg, welcher über das entsprechende Glyoxal zu einem epimeren Hydroxycarbonsäuregemisch führt, konnte erkannt und durch die Synthese der Reaktionsprodukte bewiesen werden.

   Durch circulardichroitische Messungen wurde in der Säurefraktion noch die entsprechende Glyoxylsäure in 25proz. Ausbeute nachgewiesen. Diese α-Ketocarbonsäure muß in einem synchron verlaufenden Prozeß (Weg b) entstanden sein, denn bei einem inversen Ansatz, d. h. Zusatz des α-Ketolsteroids zu einer alkalischen TTC-Lösung, konnte sie als einzige saure Komponente in 65proz. Ausbeute isoliert werden.



DESOXYCORTICOSTERON R= H
REICHSTEIN S R= OH

2) Bei der Dehydrierung von Reichstein Substanz S mit TTC wurde der Einfluß einer zusätzlichen 17α-Hydroxygruppe untersucht. Da als alleinige Umsetzungsprodukte die Hydroxysäure neben geringen Mengen Glyoxal auftraten, wurde hier der gleiche Reaktionsverlauf, wie in Weg a angedeutet, gefunden.

Das Ausbleiben einer α-Ketocarbonsäurebildung (Weg b) dürfte in einer Aktivierung durch die 17α-OH-Gruppe zu suchen sein, da diese durch einen induktiven Effekt auf die C-20-Carbonylgruppe die intramolekulare Umlagerung des Glyoxals zur Hydroxysäure erleichtert.

3) Benzoylcarbinol und 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon bilden bei der TTC-Dehydrierung die entsprechenden Glyoxale, das 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon zusätzlich noch die Hydroxysäure. Die Struktur dieser

Glyoxale wurde über ihre Darstellung durch Quecksilber(II)-acetatspaltung von Phenacylaminen bestätigt.

4) Als alicyclische Modellsubstanz wurde das Cyclohexylhydroxymethylketon synthetisiert. Die Umsetzung mit TTC ergab neben wenig Glyoxal hauptsächlich eine α-Ketocarbonsäure, die charakterisiert wurde.

5) Die Umsetzung von Acetol (Hydroxyaceton) mit TTC führte ebenfalls zu keiner Hydroxysäure.

Alle TTC-Reaktionen haben damit gemeinsam die Entstehung der entsprechenden Glyoxale. Diese können - falls sie stabil sind - vollständig erhalten bleiben (Phenylglyoxal) oder eine teilweise Umlagerung zur Hydroxysäure erfahren, wobei ein starker Elektronenzug der Nachbargruppe der Carbonylfunktion begünstigend wirkt. Bei mangelnder Beständigkeit des Glyoxals und fehlender Umlagerungstendenz scheint der Weg b zur Ketocarbonsäure bevorzugt zu werden. Dabei handelt es sich mit Sicherheit um einen anderen Mechanismus und nicht um eine unspezifische Oxydation der Hydroxysäure. Dies ergibt sich aus stöchiometrischen Überlegungen und aus der Tatsache, daß ein großer Überschuß an Dehydrierungsreagens keine höhere Ausbeute liefert. Es ist daher anzunehmen, daß die Bildung der Glyoxylsäure erst bei der Aufarbeitung des jeweiligen TTC-Reaktionsansatzes erfolgt.

Für die einzelnen Komponenten wurden dünnschicht- und papierchromatographische Verfahren ausgearbeitet, die einen raschen und eindeutigen Nachweis gestatten. Bei vergleichenden Versuchen unter den drastischeren Pharmakopöebedingungen konnten auch hier in jedem Fall neben Artefakten das Glyoxal und die Hydroxysäure sicher nachgewiesen werden.

Beschreibung der Versuche

Dünnschichtchromatographie

Es wurde mit der DESAGA-Grundausrüstung und Platten 20 x 20 cm gearbeitet. Sorptionsmittel: Kieselgel HF 254 "Merck", aktiviert 1 Std. bei 110°.

Fließmittel:
- I: $CHCl_3$/Ameisensäure reinst (85:15)
- II: Tetrachlorkohlenstoff/Cyclohexan/Essigester (75:10:15)
- IIIa: Benzol/Methanol (8:2)
- IIIb: Benzol/Methanol (9:1)
- IV: Chloroform/Essigsäureäthylester/Ameisensäure (45:45:10)

Präparative Schichtchromatographie

Für 1 Platte von 1 mm Schichtdicke wurden 30 g Kieselgel HF 254 mit 75 ml Wasser angeschlämmt, 10 Std. bei Raumtemperatur luftgetrocknet, 3 Std. aktiviert bei 110°.

Papierchromatographie

Papier: Schleicher u. Schüll 2043 b

Gemisch: Isooctan/Methanol/Toluol/Wasser (170:150:30:50)

Das Papier wurde mit der unteren Phase imprägniert, nach Auftragen der Substanzen in die über 48 Std. mit mobiler und stationärer Phase gesättigte Kammer zum Äquilibrieren eingehängt und nach der absteigenden Methode mit der oberen Phase entwickelt.

Detektionsmittel:
1) Gesättigte 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung in 2 n HCl.
2) 20proz. absolut äthanol. p-Toluolsulfonsäurelösung.
3) 1proz. TTC in 0,5 n methanol. NaOH (frisch bereitet).
4) 50proz. äthanol. H_2SO_4.
5) Dragendorff's-Reagens, modifiziert nach Thies und Reuther, nachsprühen mit 4).

Säulenchromatographie[42)]

1 kg Celite 545 (20-40 nm) wurden zur Entfernung der feinsten Partikel dreimal mit Wasser gewaschen und anschließend 60 Std. im Trockenschrank bei 140° getrocknet. 650 g des so behandelten Celites wurden mit 350 ml der unteren Phase des Systems Isooctan/Methanol/Toluol/Wasser (170:150:30:50) angeschlämmt. Da während der langwierigen Präparation das restliche Celite wieder trocknete, wurde die zweite Hälfte nochmals mit 100 ml der stationären Phase angeschlämmt. Um eine möglichst gleichmäßige Säule zu erhalten, wurde jeweils eine 2 cm Schicht Sorbens mit einem genau eingepaßten Metallstössel festgestampft und nochmals mit einem im Radius 0,5 cm kleineren Martinspacker, der grob perforiert war, nachgestampft. Die Säule, die einen Durchmesser von 5,5 cm hatte und 1 m hoch war, war nach Aufgabe des gesamten Materials drei Viertel gefüllt. Mit der mobilen Phase des obigen Systems erfolgte eine Farbstoffkontrolle mit Sudan III. Da die innere Zone nicht rascher lief als die äußere, konnte die Säule zur Trennung der Ester benützt werden.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Kofler-Schmelzpunkte-Mikroskop ermittelt und unkorrigiert angegeben.

UV-Spektrophotometrie

Die Messung erfolgte im Zeiss Spektralphotometer PQM II in Quarzküvetten in wasserfreiem Methanol oder Dioxan.

IR-Spektrophotometrie

Die Messungen erfolgten im Beckman IR 8 in KBr-Preßlingen; die IR-Spektren für den OH-Bereich wurden in CCl_4 aufgenommen.

Circulardichroitische Messungen

Die CD-Spektren wurden im Dichrographe Roussel-Jouan, Type PR 2210, in Dioxan aufgenommen.

---

42) M.LEWBART, W.WEHRLI u. T.REICHSTEIN, Helv.chim.Acta 46, 505 (1963).

Berechnung von $\Delta\varepsilon = \frac{d \cdot s \cdot 10^{-4}}{c \cdot l}$

s = Empfindlichkeit
d = Schreiberausschlag in mm
c = Konzentration in Mol/l
l = Schichtdicke in cm
Θ = molare Elliptizität = 3300 $\cdot$ $\Delta\varepsilon$

Gaschromatographie

Modell F+M (Hewlett Packard) 5750; Säulenfüllung: 20% Carbowachs 4000 auf Chromosorb RS 30/60; Trägergas: Stickstoff; Empfindlichkeit: 10^3 x 8.

1) Säulenlänge: 3 m; Ofentemperatur 100°; Fließgeschwindigkeit 2,5.
2) Säulenlänge: 4 m; Ofentemperatur 175°; Fließgeschwindigkeit 1,7.

Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden in den Mikroanalytischen Laboratorien Ilse Beetz, Kronach/Ofr. ausgeführt.

NMR-Spektroskopie

Die Kernresonanz-Spektren wurden in einem Varian A 60 A-Gerät in Deuterochloroform aufgenommen.

Dünnschichtchromatographische Prüfung von Pharmakopöe-Ansätzen

Die Ansätze nach der USP XVII und BP 63 wurden nach Vorschrift, nur unter Verwendung von TTC (USP XVII) durchgeführt.

Die Reinigung des Stickstoffs[43)] wurde durch Waschen des Gases mit einer Lösung von 48 g Natriumdithionit, 40 g NaOH und 12 g Anthrachinonsulfonsäurenatrium in 300 ml

43) HOUBEN-WEYL, Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., I/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1959 (S. 239).

Wasser durchgeführt (eine Sättigung der Lösung mit Sauerstoff ist an dem Farbumschlag von Scharlachrot nach Braun zu erkennen). Anschließend wurde das Gas durch konz. H_2SO_4 und Blaugel getrocknet.

Umsetzung von I mit TTC

3 mmol Desoxycorticosteron (I) wurden mit 3 mmol TTC in 80 ml CH_2Cl_2 gelöst. Der Ansatz wurde unter Stickstoff gehalten und durch eine wässrige Eismischung gekühlt. Nach Zugabe von 6 ml 40proz. methanolischer Benzyltrimethylammoniumhydroxidlösung trat die Formazanbildung augenblicklich ein, anschließend wurde 2 1/2 Std. mit dem Magnetrührer unter Lichtausschluß gerührt. Die org. Phase wurde mit 3 Mal 50 ml 5proz. Hydrogencarbonat- und mit 2 Mal 50 ml n NaOH-Lösung ausgeschüttelt. Die vereinigten alkalischen Extrakte wurden mit Äther formazanfrei gewaschen, mit 2 n HCl angesäuert und mit Essigester extrahiert. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wurde ein kristallines Rohprodukt erhalten, das im Dünnschichtchromatogramm 4 Flecke zeigte (vgl. Abb. 1).

Ausbeute: 348 mg

Veresterung von IIa und IIb mit Diazomethan

Ca. 2 g der Säurenphase aus mehreren Ansätzen wurden in wenig Methanol gelöst und tropfenweise mit 35 ml einer ätherischen Diazomethanlösung versetzt (hergestellt aus 10,3 g Nitrosomethylharnstoff in 100 ml Äther[44]). Nach 2 Std. wurden i. Vak. die Lösungsmittel abgezogen und das Rohprodukt in Celite dispergiert. Anschließend wurde 12 Std. i. Vak. getrocknet.

Säulenchromatographische Trennung

Das getrocknete Rohprodukt wurde auf die vorbereitete Säule gebracht, leicht angedrückt und mit einer runden Filtrierpapierscheibe zugedeckt. Eluiert wurde mit der oberen Phase des vorher beschriebenen Systems. Eine ge-

---

44) H.MEERWEIN, H.RATHJEN u. H.WERNER, Ber.dtsch.chem.Ges. 75, 1610 (1942).

ringe Verunreinigung von Formazan diente als Farbstoffkontrolle; da der Farbstoff an der Front wanderte, konnten die ersten Fraktionen verworfen werden.

Tropfenfolge: 1,2 ml/Min. Fraktionsvolumen: 15 ml

Fraktion		
	5 - 30	Formazan
	40 - 160	brauner unbekannter Fleck
	140 - 300	blauer Fleck (Glyoxylsäuremethylester s. u.)
	200 - 700	gelber Fleck
(IIIb) ß-Ester rein:	320 - 380;	Rf 0,48 im Papierchromatogramm
(IIIa) α-Ester rein:	480 - 700;	Rf 0,39 im Papierchromatogramm

Kristallisation aus Essigester im Tiefkühlschrank ergab für ß-Ester einen Schmp. von 176-179° und für den α-Ester 181-185°.

$C_{22}H_{32}O_4$ (360,5) ß-Ester Ber.: C 73,30 H 8,95
Gef.: C 73.14 H 8,82

α-Ester Ber.: C 73,30 H 8,95
Gef.: C 73,04 H 8,75

Säuren IIa und IIb aus den Estern[23] IIIa bzw. IIIb

99,5 mg α-Ester wurden in 10 ml absolutem Methanol gelöst, 10 ml Wasser und 1 ml n NaOH zugefügt. 15 Min. wurde bei Raumtemperatur lichtgeschützt stehengelassen und anschließend mittels durchströmendem N_2-Gas das meiste Methanol entfernt. Mit Wasser wurde auf 50 ml verdünnt, mit verdünnter HCl angesäuert und 5 Mal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Kristallisation aus Essigester bei -30° ergab die Säure in einer Ausbeute von 72% d. Th. Schmp. 213-215° (12 Std. über P_2O_5 getrocknet) (IIa).

Mit dem ß-Ester wurde genauso verfahren. Schmp. 213-215° (IIb).

Δ4-3-Keto-ätio-cholensäure (V) aus I[20)]

500 mg I wurden in 100 ml 50proz. Essigsäure gelöst und 30 Min. am Magnetrührer mit 13 g $NaBiO_3$ (83proz.) gerührt. Mit 150 ml Wasser und genügend 3 n KOH wurde soweit verdünnt, bis 75% der Essigsäure neutralisiert waren. Anschließend wurde mit Benzol geschüttelt und der ganze Ansatz durch eine G3-Fritte filtriert. Die Benzolschicht wurde abgetrennt und die wässrige Phase 3 Mal mit je 50 ml Benzol ausgeschüttelt. Mit diesen Benzolauszügen wurde das Filter gewaschen. Die vereinigten Benzolextraktionen wurden 2 Mal mit Wasser gewaschen, wobei das Waschwasser mit Benzol rückgewaschen wurde. Der gewaschene Benzolextrakt wurde über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. bei 30° zur Trockne eingedampft. Ausbeute: 80% d. Th. Wiederholte Kristallisation aus Aceton/Petroläther (30-50°) ergaben längliche Prismen mit dem Literaturschmp. 235-242°.

Oxydation von IIa und IIb mit Chrom(VI)-oxid

50 mg Säure wurden in 10 ml Eisessig gelöst, mit 100 mg Chrom(VI)-oxid in 15 Tropfen Wasser versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur stehengelassen. Mit überschüssigem Methanol wurde das restliche Chrom(VI)-oxid entfernt, i. Vak. die Lösungsmittel abgezogen, mit Wasser und Essigester der Rückstand aufgenommen und die org. Phase nach Waschen mit Wasser und Trocknen über Natriumsulfat zur Kristallisation gebracht. Ausbeute 30 mg V. Umkristallisation aus Essigester/Äther. Schmp. 235-240°. Der Mischschmp. mit dem durch Wismutatoxydation gewonnenen V zeigte keine Depression. Die IR und UV-Spektren waren deckungsgleich.

$C_{20}H_{28}O_3$ (316,44) Ber.: C 75,91 H 8,92
Gef.: C 75,73 H 9,13

21-Carboxymethyl-Δ4-pregnen-3,20-dion (IX)

60 mg Estergemisch IIIa + IIIb wurden in 6 ml Eisessig gelöst und mit 40 mg Chrom(VI)-oxid in 0,3 ml Wasser versetzt. Nach 2 1/2 Std. Stehen bei Raumtemperatur wurde der Überschuß von CrO_3 mit Methanol reduziert und die

Lösungsmittel im N_2-Strom entfernt. Aufarbeitung analog oben. Ausbeute: 40 mg (63% d. Th.). Schmp. 136-139° (Äther).

$C_{22}H_{30}O_4$ (358,46) Ber.: C 73,71 H 8,44
Gef.: C 73,78 H 8,55

Glyoxalhalbacetal von I[22)]

3,13 g Desoxycorticosteron (I) wurden in 250 ml frisch über Mg absolutiertem Methanol gelöst und auf dem Magnetrührer mit 250 ml einer 0,01 mol. Kupferacetatlösung in entwässertem Methanol versetzt. Während einer Std. wurde Luft durchgesogen, die über konz. H_2SO_4 und $CaCl_2$ getrocknet worden war. Nach einer Std. wurden 500 mg AeDTA in 50 ml Wasser zugegeben und das Methanol im Vakuum bei 30° entfernt. Der wässrige Rückstand wurde mit CH_2Cl_2 extrahiert, das Methylenchlorid mit 5proz. Hydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das gelbe zähflüssige Öl wurde in wenig Methanol gelöst und durch Zusatz von wenig Wasser zur Kristallisation gebracht. Ausbeute: 3,25 g. Schmp. 97-102°. Trocknen über 18 Std. in der Trockenpistole über P_2O_5 brachte keine Schmp.-Veränderung.

Inverser TTC-Ansatz von I

3 mmol (0,92 g) Desoxycorticosteron wurden in 30 ml Methylenchlorid gelöst und zu einer Lösung von 3,5 mmol (1,18 g) TTC in 50 ml CH_2Cl_2 und 6 ml einer 40proz. methanolischen Benzyltrimethylammoniumhydroxidlösung, die unter Stickstoff und Eiskühlung gehalten wurde, zugegeben. Nach 45 Min. magnetischem Rühren wurde wie oben aufgearbeitet. Ausbeute: 65% d. Th.

Durch dreimalige Umkristallisation wurde ein dünnschichtchromatographisch-reines Produkt mit dem Schmp. 180-185° (Zers.) erhalten (feine Nadeln aus Methanol).

λ_{max}^{MeOH} 241 nm, log ε 4,22 (En-on-Gr.)

λ_{max}^{MeOH} 315 nm, log ε 1,94 (isolierte Ketogruppe)

$C_{21}H_{28}O_4$ (344,44) Ber.: C 73,22 H 8,19
Gef.: C 73,41 H 8,25

IR-spektrophotometrische Untersuchungen der Steroid-glyoxylsäure

OEHME und Mitarbeiter[45] haben bei Messungen mit Phenylglyoxylsäure festgestellt, daß diese chelatisiert, d. h. mit einer Wasserstoffbrücke zum π-Elektronenpaar der Carbonylgruppe vorliegt.

Die Bildung von Wasserstoffbrücken der Form OH...Carbonyl ist das spezielle Beispiel einer Donator-Akzeptor-Beziehung. Die acide Gruppe OH wirkt als Protonendonator, die Gruppe C=O als Protonenakzeptor, bzw. Elektronendonator. Dabei können sowohl freie Elektronenpaare als auch π-Elektronen diese Akzeptorfunktion erfüllen.

Carbonsäuren bilden nun in unpolaren Lösungsmitteln wie CCl_4 sehr stabile Dimer-Assoziate, die erst bei hoher Verdünnung ($c < 0{,}01$ m) meßbar in die monomere Form zerfallen[46]. Carbonyl- und Hydroxylbanden der monomeren Formen liegen bei höheren Frequenzen als die Banden der assoziierten. Durch steigende Verdünnung (auch durch Temperaturerhöhung) kann das Gleichgewicht in Richtung auf die monomeren Moleküle verschoben werden.

Bei Glyoxylsäuren sind die monomeren Moleküle durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zusätzlich stabilisiert, sodaß man schon bei Konzentrationen unter 0,002 m keine Anzeichen für intermolekulare Assoziationen im Spektrum findet.

Im Hydroxylvalenzschwingungsbereich konnte in $\leq$ 0,005 m Lösung gemessen werden. Bei dieser Konzentration treten

45) G.OEHME, G.FISCHER u. A.SCHELLENBERGER, Chem.Ber. 100, 425 (1967).
46) L.J.BELLAMY, Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution, 2. Aufl., Dr. D. Steinkopff Verlag, Darmstadt 1966 (Kap. 10).

2 Banden auf, die der offenen Form bei 3650 cm^{-1} und der intramolekular gebundenen Form bei 3410 cm^{-1} zuzuordnen sind, wobei jedoch freies OH nur noch in verschwindendem Maße vorhanden war.

Über circulardichroitische Messungen s. u.

Quantitative Bestimmung der Säure VI[47])

61,1 mg Substanz wurden in 10 ml CO_2-freiem, absolutem Methanol gelöst und die gleiche Menge kochendes CO_2-freies dest. Wasser zugegeben. Mit 0,1 n NaOH wurde gegen Phenolphthalein titriert. Verbrauch: 1,76 ml 0,1 n NaOH (F = 0,998) ≙ 60,51 mg Steroidsäure.

Qualitativer Nachweis der Säure VI als p-Phenylphenacylester VII[48])

Die titrierte Flüssigkeit wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 2 ml Wasser gelöst und mit 0,1 n HCl auf pH 7,5 eingestellt, 250 mg p-Phenylphenacylbromid und 8 ml Aethanol hinzugefügt und 2 Std. auf dem Wasserbad am Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen wurde mit 10 ml Wasser verdünnt und 5 Mal mit 30 ml Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten benzolischen Auszüge wurden mit Wasser gegengewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und soweit eingeengt, bis Kristallisation erfolgte.

$C_{35}H_{38}O_5$ (538,62) Ber.: C 78,04 H 7,11
Gef.: C 77,87 H 7,08

Disemicarbazon VI[49])

20 mg Steroidsäure wurden mit 4 ml methanolischer Semicarbazidlösung (1 g Semicarbazid·HCl wurden mit 1,5 g krist. Natriumacetat verrieben, 3 ml absol. Methanol zugesetzt und filtriert) 2 Tage bei Raumtemperatur vor

47) HOUBEN-WEYL, Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., 2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1953 (S. 497).
48) A.STOLL u. E.SEEBECK, Helv.chim. Acta 37, 832 (1954).
49) T.REICHSTEIN, Helv.chim.Acta 19, 59 (1936).

Licht geschützt stehengelassen. I. Vak. wurde bei 30° bis zur Sirupdicke eingedampft und mittels Wasserzusatz der Steroidkörper ausgefällt. Das pulverige Rohprodukt wurde mit Wasser gewaschen, nach dem Trocknen in absolutem Alkohol gelöst, i. Vak. wieder zur Sirupdicke eingeengt und nach Kristallisationsbeginn wenig frischen Alkohols zugesetzt und schwach erwärmt. Ausbeute: 15 mg (55% d. Th.) VIII. Schmp.: Ab 265° beginnende Bräunung, bis 350° kein Klarschmp.

$C_{23}H_{34}O_4N_6$ (458,55) Ber.: N 18,33
Gef.: N 18,21

Methylester von VI (in Äther)

25 mg Steroidsäure wurden in 15 ml ätherischer Diazomethanlösung[44] direkt aufgelöst. Eine sofort stürmisch einsetzende N_2-Entwicklung zeigte die Umsetzung an. Mit weiteren 10 ml Äther wurde verdünnt und 15 Min. stehengelassen. Übliche Aufarbeitung. Ausbeute: 95% d. Th. IX. Umkristallisation aus Äther. Schmp. 136-139°.

Homo-Methylester von VI (in Methanol)

70 mg Ketocarbonsäure wurden in 5 ml absolutem Methanol gelöst und mit einem Überschuß von ätherischer Diazomethanlösung[44] (20 ml) versetzt. Nach 1 Std. Stehen bei Raumtemperatur wurden die Lösungsmittel i. Vak. abgezogen. Kristallisation aus Äther. Ausbeute: 73 mg X, farblose Nadeln, Schmp. 160-164°.

$C_{23}H_{32}O_4$ (372,49) Ber.: C 74,16 H 8,66
Gef.: C 74,05 H 8,74

IR-Spektrum: Banden bei 1610 cm^{-1} (C=C), 1675 cm^{-1} (CO), 1740 cm^{-1} (Ester)

Das NMR-Spektrum zeigte Signale bei

τ = 4,27, s (olefinisches Proton)
τ = 6,24, s (Estermethylgruppe), 3 Protonen
τ = 7,38, s (Methylengruppe), 2 Protonen (s. Anhang)

Girardextraktion[50] aus der Formazanphase vom inversen Ansatz

Die org. Formazanphase wurde i. Vak. fast zur Trockne eingedampft, mit 100 ml Methanol, 25 ml Eisessig, 25 ml Wasser und 2,5 g Girard D (N-N-Dimethylglycin-hydrazid·HCl) versetzt. Es wurde bei mäßiger Temperatur auf dem Wasserbad solange erwärmt, bis vollständige Lösung eingetreten war. Nach 18 Std. Stehen bei Raumtemperatur wurde nochmals leicht erwärmt und nach dem Abkühlen mit Eiswasser verdünnt. Das abgeschiedene Formazan wurde abfiltriert und der Rest mit Äther extrahiert. Die Ätherauszüge wurden mit Wasser gegengewaschen und der Girardphase wieder zugefügt. Nach dem Ansäuern mit konz. HCl bis auf 2 n, wurde die wässrige Phase mit Äther 5 Mal extrahiert und dies nach 12 Std. wiederholt. Die Ätherauszüge wurden getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Anschließend wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie (Fließmittel III) getrennt.

CD-Untersuchung der Säuren aus der Umsetzung von I mit TTC

IIa und IIb zeigen bei einer Konzentration von 10 mg/10 ml reinem Dioxan einen negativen Cotton-Effekt von d = 52 mm (Max. bei 331,5 nm, $\Delta\varepsilon$ = -1,39), die der En-on-Gruppierung zugeordnet werden kann. Zusätzlich zu diesem zeigt das Glyoxylsäure-Derivat (VI) bei 370 nm in einer Konzentration von 5 mg/10 ml Dioxan einen positiven CE von d = 15 mm ($\Delta\varepsilon$ = +0,83), welcher der C-20-Keto-Funktion zuzuordnen ist (Max. bei 332 nm, $\Delta\varepsilon$ = -0,23).

Bei einer willkürlich gewählten Konzentration der Gesamtsäurephase aus der modifizierten TTC-Umsetzung wurden bei 331 nm d = 26 mm gemessen. Daraus läßt sich errechnen, daß 5 mg Steroidkörper mit einer En-on-Gruppierung, außer dem Glyoxylsäurederivat VI, in 10 ml Dioxan vorhanden sein müssen. (Dabei wurde die En-on-Gruppierung der Glyoxyl-

50) M.VISCONTINI und J.MEIER, Helv.chim.Acta 33, 1773 (1950).

säure VI vernachlässigt, da diese bei der Konzentration von 5 mg/10 ml nur einen neg. CE von d = 4 mm zeigt.) Setzt man die d = 5 mm des pos. CE, die aus der willkürlich gewählten Konzentration bei 374 nm gefunden wurden, in Beziehung zur reinen Glyoxylsäure (s. o.), so läßt sich für die Säure VI ein Gehalt von ungefähr 1,6 mg/10 ml errechnen. Somit ergibt sich eine Gesamtsteroidmenge von ca. 6,6 mg/10 ml. Auf die Glyoxylsäure entfallen ca. 25% und auf die Säuren IIa und IIb ca. 65%.

Interpretation der CD-Spektren

21-Carboxy-Δ4-pregnen-3,20-dion

I: λ_{max_1} = 370 nm; $\Delta\varepsilon_1$ = + 0,83; Θ_1 = 2730 ; CE pos.

Diese Bande ist dem α-Ketocarbonsäure-Rest an C-17 zuzuordnen. Es handelt sich um den $n \rightarrow \pi^*$-Übergang der nicht bindenden Elektronenpaare des Carbonylsauerstoffs. Dieser Übergang liegt ohne Substituenten mit starkem mesomerem Einfluß bei 280 nm. Die bathochrome Verschiebung läßt sich wie folgt deuten:

Carbonyl-und Carboxylgruppe üben jeweils auf die konjugierte Doppelbindung des anderen Substituenten einen negativen Mesomerie-Effekt aus. Dabei ist der - M-Effekt der Carboxylgruppe wegen der Hydroxylgruppe, die ihrerseits einen + M-Effekt auf die C=O-Doppelbindung ausübt, gegenüber dem - M-Effekt der Carbonylgruppe an C-20 abgeschwächt.

Dies führt zu einer größeren Elektronendichte am Sauerstoff der C-20-Carbonylgruppe als am Sauerstoff der C-21-Carbonylfunktion. Dieses "quasi-auxochrome" Verhalten der Carboxylgruppe bezüglich des C-20-Carbonyl-Chromophors könnte die bathochrome Verschiebung der Bande erklären[51].

---

51) H.STAAB, Einführung in die Theoretische Organische Chemie, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1962 (S. 574).

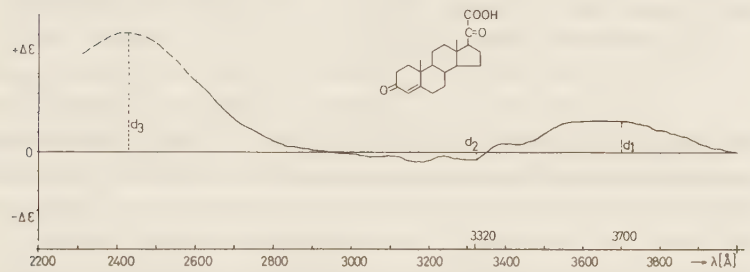
II: λ_{max_2} = 332 nm; $\Delta\varepsilon_2$ = - 0,23; Θ_2 = - 770; CE neg.

λ_{max_3} = 235-245 nm; $\Delta\varepsilon_3$ = + 10,3; Θ_3 = + 3400; CE pos.

Die Bande bei 332 nm ist dem n→π^*-Übergang und die zwischen 235-245 nm dem π→π^*-Übergang der 4-en-3-on-Gruppe im Ring A des Steroidgerüstes zuzuordnen, wie aus einer Vergleichssubstanzmessung hervorgeht.

C-21-Carboxymethyl-20-hydroxy-Δ4-pregnen-3-on

λ_{max} = 331,5 nm; $\Delta\varepsilon$ = - 1,39; Θ = - 4600; CE neg.



Umsetzung von Reichsteins Substanz S mit TTC

1,01 g (3 mmol) Reichsteins Substanz S wurden mit 1,24 g TTC in 100 ml Methylenchlorid am Magnetrührer unter Stickstoffbegasung und Lichtschutz gelöst. Nachdem der Ansatz durch eine Eis-Kochsalzmischung gekühlt worden war, wurden 8 ml einer 40proz. methanolischen Benzyltrimethylammoniumhydroxidlösung in 50 ml Methylenchlorid zugegeben und 2 1/2 Std. gerührt. Die Formazanbildung trat nach Alkalizugabe augenblicklich ein. Aufarbeitung erfolgte wie im DOC-Versuch beschrieben. Ausbeute: 778 mg (80% d.

Th.). Umkristallisation gelang durch Lösen in 20 Teilen Methanol und 10 Teilen Methylenchlorid bei 50° am Rückfluß. Nachdem das Methylenchlorid unter vermindertem Druck weitgehend abdestilliert worden war, kristallisierte das Produkt in feinen Plättchen aus. Schmp. 226 bis 229°. Rf 0,25 in Fließmittel IV.

$C_{21}H_{30}O_5$ (362,4) Ber.: C 69,58 H 8,34
Gef.: C 69,42 H 8,24

Glyoxal XII von XI nach Methode Mattox

Ein Ansatz in frisch über Magnesium entwässertem Methanol unter den gleichen Reaktionsbedingungen wie im DOC-Versuch beschrieben, zeigte nach 2 Std. noch keine Veränderung der Ausgangssubstanz an.

Ein erneuter Versuch, der sukzessive auf 85° erwärmt wurde, zeigte nach 15 Min. stechenden Geruch von Formaldehyd, der aus Methanol entstanden sein dürfte. Nach 20 Min. trat die charakteristische Farbveränderung auf, die von Blaugrün - Violettblau - Grün - graue Trübung - Graugrün bis zur blaugrünen Ausgangslösung führte und nach 15 Min. wieder abgeklungen war. Anschließend wurde wie zuvor aufgearbeitet. Rf 0,48 in Fließmittel IV.

Dianilinoäthanderivat von XII[52)]

0,9 g Rohprodukt wurden in Methanol gelöst, von wenigen unlöslichen Flocken abfiltriert und mit 20 ml Wanzlick-Reagens versetzt. Ausbeute: 91%. Schmp. Rohprodukt 190 bis 194°. Nach 5maliger Umkristallisation aus Methylenchlorid/Methanol wurden fast weiße Kristalle erhalten. Schmp. 194-196°.

$C_{35}H_{42}O_3N_2$ (538,7) Ber.: C 78,03 H 7,86
Gef.: C 77,80 H 7,59

Δ4-17α-Hydroxy-3,20-diketo-pregnen-21-yl-pyridiumchlorid (XVIII)

4 g (0,033 Mol) Reichsteins Substanz S wurden in 35 ml

52) H.W.WANZLICK u. W.LÖCHEL, Chem.Ber. 86, 1463 (1953).

wasserfreiem Pyridin gelöst und 2,5 g (0,039 Mol) p-Toluolsulfochlorid zugefügt. 3 Min. wurde die Lösung auf 45° erwärmt und dann unter Lichtschutz 24 Std. bei Raumtemperatur unter gelegentlichem Umschütteln stehengelassen. Nach 2 Std. begannen sich Kristalle abzuscheiden. Der Kristallbrei wurde in 100 ml Aceton eingerührt, das Präzipitat gesammelt und mit wenig gekühltem Aceton gewaschen. Schmp. 305-308°. Ausbeute: 2,1 g (41% d. Th.).

Δ4-17α-Hydroxy-3,20-diketo-pregnen-21-N-(p-dimethylamino-phenyl)-nitron XIX aus XVIII

1,8 g Pyridiniumchlorid XVIII und 0,7 g p-Nitrosodimethylanilin wurden in 50 ml Methanol gelöst und 35 ml lauwarmes Wasser, sowie eine Lösung von 0,4 g Natriumhydrogencarbonat in 10 ml Wasser zugefügt. Es erfolgte ein Farbwechsel von Grün nach Rotbraun. Nach einigen Std. Stehen bei Raumtemperatur erfolgte Kristallisation. Nach 24 Std. wurden die Kristalle gesammelt und solange mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser farblos war. Das im Exsikkator getrocknete Nitron ergab 61% d. Th. Nach weiteren 8 Tagen konnten aus der Mutterlauge nochmals 25% gewonnen werden. Rote Plättchen. Schmp. 180-184° unter Zersetzung.

Glyoxal XII aus XIX

Eine Suspension von 1,5 g Nitron in 500 ml Äther wurde mit 100 ml 6,5proz. Salzsäure solange geschüttelt, bis sich alle festen Anteile gelöst hatten. Die Schichten wurden getrennt und die wässrige 3 Mal mit 140 ml Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherschichten wurden mit je 100 ml 2 n HCl, Wasser, 5proz. Hydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Über Natriumsulfat wurde getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Beim Konzentrieren trat Kristallisation ein. Schmp. des Hydrats (roh) 105 bis 109°. Es gelang nicht, auf reproduzierbare Weise das Produkt umzukristallisieren.

Chinoxalin XIIb aus XII

Zu 0,37 g Aldehydhydratrohprodukt in 5 ml Methanol wurden

0,16 g Natriumbisulfit (techn. Lauge 40proz. = 0,64 g) in 30 ml Wasser zugefügt. 5 Min. wurde auf dem Wasserbad erhitzt und anschließend das Methanol unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 10 ml Wasser gelöst und mit 0,16 g o-Phenylendiamin in 10 ml heißem Wasser versetzt. Es fiel dabei sofort ein gelber Niederschlag aus. 30 Min. wurde auf dem siedendenden Wasserbad erhitzt, wobei der Niederschlag nicht wieder in Lösung ging. Nach dem Abkühlen wurde abgesaugt. Ausbeute: Rohprodukt 302 mg (75% d. Th.). Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Methanol wurden reine gelbe Kristalle erhalten. Große Prismen aus Aethanol. Schmp. 254-255°, nicht sublimierbar. Rf 0,80 in Fließmittel IIIa.

$C_{27}H_{32}O_2N_2$ (416,5) Ber.: C 77,85 H 7,74 N 6,73
Gef.: C 78,03 H 7,75 N 6,72

Glykolsäuremethylester XIV aus XIII

95 mg Glykolsäure XIII wurden in Methanol/Methylenchlorid gelöst und bei Zimmertemperatur mit 20 ml einer ätherischen Diazomethanlösung versetzt. 15 Min. wurde stehengelassen, mit einer 5proz. Hydrogencarbonatlösung und mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der ölige Rückstand kristallisierte nach wenigen Min. Umkristallisation wurde durch Lösen in Methanol, dem etwas Methylenchlorid zugesetzt worden war und anschließendes Konzentrieren bis zur leichten Trübung im Tiefkühlschrank bei -15° erreicht. Ausbeute: 90 mg (90% d. Th.). Schmp. 181-183°. Rf 0,45 in Fließmittel IV.

4'-Nitroazobenzolcarbonsäureester XVII von XIV

188 mg Glykolsäuremethylester XIV und 211 mg 4'-Nitroazobenzolcarbonsäurechlorid wurden in 7 ml wasserfreiem Benzol unter schwachem Erwärmen gelöst. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur gab man zu dem Gemisch 1,5 mmol Pyridin und ließ nach gründlichem Durchschütteln der Lösung 24 Std. bei Raumtemperatur stehen. Wenige Min. nach dem Pyridinzusatz fiel ein roter Niederschlag aus. Zur Auf-

arbeitung wurde der Ansatz mit einem Äther/Benzol-Gemisch 1:1 in einen Scheidetrichter gespült und mit einer Mischung aus 50 ml Wasser und 25 ml n H_2SO_4 kräftig durchgeschüttelt. Ein dabei ausgefallener roter Niederschlag wurde abfiltriert und die Lösung des Esters mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Unter vermindertem Druck wurde zur Trockne eingedampft und aus Methanol bis zum konst. Schmp. (228-230°) umkristallisiert. Ausbeute: 72% d. Th. (rote wollige Nadeln). Rf 0,69 in reinem Aceton.

$C_{35}H_{39}O_8N_3$ (629,7) Ber.: C 66,76 H 6,24 N 6,67
Gef.: C 66,61 H 6,27 N 6,56

Glykolsäure-p-phenylphenacylester XVI

205 mg Glykolsäure XIII wurden in 30 ml absolutem, CO_2-freiem Methanol gelöst, die gleiche Menge kochendes CO_2-freies dest. Wasser zugefügt und mit 0,1 n NaOH gegen Phenolphthalein titriert (Verbrauch: 5,64 ml 0,1 n NaOH ≙ 204 mg Säure).

Die titrierte Flüssigkeit wurde i. Vak. zur Trockne gebracht, der Rückstand in 6 ml Wasser gelöst und mit 0,1 n HCl auf genau pH 7,5 eingestellt. Dann wurden 400 mg p-Phenylphenacylbromid in 25 ml Aethanol zugefügt und 2 Std. am Rückfluß auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 30 ml Wasser verdünnt und mit 5 Mal 30 ml Benzol ausgeschüttelt. Mit Wasser wurde gegengewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und soweit eingeengt, bis Kristallisation erfolgte. Ausbeute: 335 mg (90% d. Th.).

Nach 5maliger Umkristallisation aus Aceton/Äther wurde ein dünnschichtchromatographisch-reines Produkt erhalten. Schmp. 109,5-110,5° (über P_2O_5 getrocknet). Der Ester war stark hygroskopisch. Nach mehrstündigem Trocknen über P_2O_5 i. Hochvak. wurde keine genügende Gewichtsabnahme erreicht. So mußte die Temperatur stufenweise bis 69° gesteigert werden. Die Substanz selbst zeigte bis dahin noch keine Veränderung.

$C_{35}H_{40}O_6$ (556,6) Ber.: C 75,51 H 7,24
Gef.: (Bei einer Einwaage von 4,117 mg wurde nach Trocknung bei 69° ein Ges.-Gewichtsverlust von 0,106 mg erreicht).
C 75,38 H 7,34

Bleitetraacetatspaltung von Glykolsäuremethylester XIV

0,5 mmol Δ4-17α,20-Dihydroxy-21-carboxymethyl-pregnen-3-on (188 mg) löste man in 20 ml frisch entwässertem Chloroform, gab rasch 0,6 mmol Bleitetraacetat (266 mg) hinzu und rührte unter Lichtschutz 1 Std. auf dem Magnetrührer. Es wurden dann 5 ml abs. Methanol zugegeben, kräftig umgeschüttelt und über eine mit Filtercel belegte G3-Fritte filtriert. Beim Schütteln einer aliquoten Menge des Filtrats mit einer gleichen Menge konz. Ammoniak trat sofort Gelbfärbung auf, die sich nach wenigen Minuten nach Rot vertiefte.

Dünnschichtchromatographische Untersuchung in Fließmittel IIIa: Rf 0,74: Androsten-3,17-dion; orange Detektion mit DNP, Rf 0,50: Glyoxylsäuremethylesterhalbacetal; gelbe Detektion mit DNP.

Das Spaltprodukt Glyoxylsäuremethylesterhalbacetal konnte gaschromatographisch auf einer 3 m K-Säule mit Vergleichsmaterial erkannt werden.

Oxydation von XI mit Natriumwismutat

1,9 mmol (645 mg) Reichsteins Substanz S wurden in 100 ml 50proz. Eisessig und 30 Min. am Magnetrührer mit 16 g Natriumwismutat (83proz.) gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie zuvor beschrieben.

Kristallisation aus Essigester: Schmp. 165-170°. Nach Vakuumsublimation bei 180°/1,5 Torr ergab die Kristallisation feine Nadeln mit Schmp. 169-171°.

$C_{19}H_{26}O_2$ (286,4) Ber.: C 79,68 H 9,15
Gef.: C 79,70 H 9,14

N-Bromsuccinimidoxydation von XIV in Dioxan[53]

Zur Reinigung des Dioxans wurden 100 g mit 30 g konz. HCl gekocht. Während 3 Std. wurde ein schwacher N_2-Strom durch die Flüssigkeit geleitet. Anschließend wurde die wässrige Phase abgetrennt, das Dioxan mit festem KOH geschüttelt, filtriert und fraktioniert destilliert.

Zu einer Lösung von 200 mg Ester XIV in 15 ml so gereinigtem Dioxan und 1 ml Wasser wurden bei 28° auf dem Magnetrührer 685 mg NBS in Substanz zugegeben. Die Mischung wurde solange gerührt, bis sich die festen Teile gelöst hatten. Nach 16 Std. wurde mit 15 ml Wasser verdünnt und i. Vak. bei 40° bis zur beginnenden Kristallisation eingeengt. Kristallisation aus Benzol gab ein nicht einheitliches Produkt. Dünnschichtchromatographische Untersuchung in Fließmittel IV: Rf 0,64 (Androstendion); Rf 0,55, blaue Detektion mit p-Toluolsulfonsäure bei 110°; Rf 0,46 (unveränd. Glykolsäuremethylester).

Auf einer mit 6 g neutralem Al_2O_3 (Brockmann St. II) beschickten Säule konnte Androstendion abgetrennt werden, eine Trennung des Glykol- und des erwarteten Glyoxylsäureesters gelang jedoch nicht.

Dimethylsulfoxid-Oxydation von XIV

Reinigung des DMSO: Zur Reinigung, die in leicht abgewandelter Form in der Apparatur nach SCHÄFER[54] erfolgte, mußte das käufliche DMSO von geringsten Spuren Wasser und Zersetzungsprodukten, wie Dimethylsulfid, befreit werden.

Zur Oxydation wurden 0,5 mmol (188 mg) Ester mit 3 ml

53) L.F.FIESER, J.E.HERZ, M.W.KLOHS, M.A.ROMERO, T.UTNE, J.Amer.chem.Soc. 74, 3309 (1952).
54) H.L.SCHÄFER, Angew.Chem. 72, 618 (1960).

gereinigtem DMSO und 2 ml Acetanhydrid vermischt. 24 Std. wurde bei Raumtemperatur lichtgeschützt stehengelassen. Dabei trat ein starker meerrettichartiger Geruch auf. Mit Wasser wurde der Reaktionsansatz dann verdünnt und 5 Mal mit 50 ml Essigsäureäthylester extrahiert. Mit Wasser wurde gegengewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, konzentriert und zur Kristallisation gebracht. Der Mischschmp. mit Androstendion ergab keine Depression. Die IR-Spektren waren deckungsgleich.

Oxydation von XIV mit Chrom(VI)-oxid

60 mg Glykolsäuremethylester wurden in 6 ml Eisessig gelöst und mit 40 mg CrO_3 in 6 Tropfen Wasser versetzt. 2 1/2 Std. wurde unter Lichtschutz bei Raumtemperatur stehengelassen. Es wurde wie zuvor aufgearbeitet. Kristallisation aus Essigsäureäthylester/Äther. Ausbeute: 42 mg (75% d. Th.). Zur Reinigung wurde eine Probe bei 165°/0,5 Torr sublimiert. Das am Kühlfinger gläsern erstarrte Produkt ließ sich aus Äther zur Kristallisation bringen. Schmp. 169-171°. Das IR-Spektrum zeigte Übereinstimmung mit XV.

Verseifung von p-Phenylphenacylbromid mit Bariumhydroxid [35]

In einem 500 ml Dreihalskolben mit KPG-Rührer wurden zu 2,75 g p-Phenylphenacylbromid in 150 ml Dioxan 3,15 g $Ba(OH)_2 \cdot 8\ H_2O$ in 120 ml ausgekochtem dest. Wasser während einer Std. zugetropft. Nach kurzer Zeit erfolgte deutliche Rotbraunfärbung und Abscheidung eines aus 4 Stoffen bestehenden Kristallisates. Unter N_2-Begasung wurde 12 Std. bei Raumtemperatur gerührt, dann soviel Kochsalz zugegeben, bis sich 2 Phasen einstellten. Die org. Phase wurde abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und das Dioxan bei vermindertem Druck entfernt. Das Dünnschichtchromatogramm zeigte 3 Flecke. Durch entsprechendes Umkristallisieren konnte p-Phenylbenzoesäure isoliert werden.

Essigsäure-p-phenylphenacylester XXIV

5,5 g p-Phenylphenacylbromid wurden in 200 ml Methanol ge-

löst und 8 g Kaliumacetat in 50 ml Methanol unter leichtem Rühren zugetropft. 2 Std. wurde kalt digeriert und anschließend auf dem Wasserbad 15 Min. am Rückfluß erhitzt. Zu der heißen Lösung wurden genügend Eisstückchen gegeben, der Ester abfiltriert und aus Methanol sowie Äther/Pentan umkristallisiert. Schmp. 109-110°.

Säurekatalysierte Verseifung des Essigsäure-p-phenylphenacylesters XXIV

2,3 g Ester wurden in 150 ml Methanol gelöst und mit 30 ml einer 40proz. Schwefelsäure 12 Std. in Stickstoffatmosphäre mit dem Magnetrührer gerührt. Anschließend wurde 10 Min. am Rückfluß erhitzt und dann mit Eiswasser genügend verdünnt. Dabei kristallisierte der Alkohol schon zum Teil aus. Mit einem Gemisch von Äther und Benzol wurde extrahiert, mit Wasser gegengewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und die Lösung soweit eingeengt, bis Kristallisation erfolgte. Feine Plättchen aus Methanol, Nadeln aus Benzol. Ausbeute: 1,8 g XX (85% d. Th.). Schmp. ab 100° Sublimation an das Deckglas, 130° Klarschmp. Rf 0,50 in Fließmittel IIIb.

$C_{14}H_{12}O_2$ (212,2) Ber.: C 79,22 H 5,70
Gef.: C 79,06 H 5,81

Ketalisierung von p-Phenylphenacylbromid

2 g Bromid und 2 g Äthylenglykol wurden mit 50 ml 1,2-Dichloräthan und 15 mg p-Toluolsulfonsäurehydrat 3 Std. am Wasserabscheider erhitzt. Von Zeit zu Zeit wurde das Destillat entfernt und mit frischem Dichloräthan nachgefüllt. Das Lösungsmittel wurde eingeengt, mit Benzol extrahiert und mit 1proz. wässriger Hydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Über Natriumsulfat wurde getrocknet und soweit eingeengt, bis Kristallisation erfolgte. Umkristallisation aus Äther bis zum konst. Schmp. von 80°. Rf 0,80 (Polyamid Woelm, Fließmittel: Benzol/abs. Aethanol (9:1). Vergl. Rf p-Phenylphenacylbromid 0,92.

$C_{16}H_{15}O_2Br$ (319,1) Ber.: C 60,21 H 4,74
Gef.: C 60,31 H 4,68

4-Phenylphenacylpiperidin XXVI

0,06 Mol (16,5 g) p-Phenylphenacylbromid wurden mit 250 ml Äther und soviel Methylenchlorid versetzt, bis eben Lösung eintrat. Nach Zugabe von 0,12 Mol (9 g) Piperidin in 50 ml Äther trat sofort stürmische Entwicklung ein, wobei der Äther aufsiedete und Piperidinhydrobromid ausgeschieden wurde. Der Ansatz wurde 1 Tag stehengelassen, das Hydrobromid abfiltriert, die ätherische Lösung wiederholt mit kaltem Wasser gewaschen und mit eisgekühlter 2 n Schwefelsäure als Sulfat gefällt. Kristallisation aus Methanol/Aceton. Nadelförmige Kristalle. Schmp. 197 bis 198°.

Zur Darstellung der freien Base wurde das Sulfat in genügend Wasser gelöst und mit Ammoniak alkalisch gemacht. Mit Äther wurde extrahiert, mit Wasser gegengewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Schwach gelbliche Kristalle. Schmp. 92-94° (Aethanol/Aceton).

$C_{19}H_{21}ON$ (279,3) Ber.: N 5,01
Gef.: N 4,83

Die freie Base wurde in absol. Aethanol gelöst und mit 60proz. Perchlorsäure tropfenweise versetzt. Es erfolgte sofort Kristallisation. Umkristallisation aus Aethanol/Aceton bis zum konst. Schmp. 230-231° (u. Zers.). Schuppenförmige, weiße Kristalle.

$C_{19}H_{22}O_5NCl$ (378,7) Ber.: C 60,2 H 5,81 N 3,69
Gef.: C 59,91 H 5,88 N 3,63

Hg(II)-Acetatspaltung von 4-Phenylphenacylpiperidin

0,5 mmol Amin XXVI wurden unter Zusatz von wenig absolutem Aethanol in 40 ml 5proz. wässriger Essigsäure gelöst. 1 mmol Hg(II)-Acetat (3,18 g) wurden in 20 ml 5proz. Essigsäure zugegeben und das Gemisch unter Lichtschutz 4 Std. bei Raumtemperatur gerührt. Nach 10 Min. trat Hg(I)-Acetat-Abscheidung ein. Da das Spaltprodukt in dem sauren wässrigen Milieu ebenfalls ausfiel, wurde der Ansatz in Äther/Methylenchlorid aufgeschlämmt, filtriert

und das Filtrat mit einer 5proz. Hydrogencarbonatlösung und anschließend mit Wasser gewaschen. Die org. Phase wurde dann über Filtercel filtriert, über Natriumsulfat getrocknet und zur Kristallisation gebracht. Ausbeute: 805 mg (80% d. Th.) XXIII. Schmp. 85-87°, gelbe Schmelze (abs. Aethanol). Rf 0,80 in Fließmittel IIIb, Rf 0,45 in I. Bei der Detektion mit Dragendorff's Reagens entstanden schwarze Flecke.

Disemicarbazon des 4-Phenylphenylglyoxals XXIII

250 mg Spaltprodukt wurden mit 1 g Semicarbazid·HCl und 1 g Natriumacetat in 10 ml absol. Alkohol und 10 ml Wasser gelöst und 30 Min. auf dem Wasserbad am Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wurden die abgeschiedenen Kristalle gesammelt, mit Äther und Alkohol gewaschen und aus Dimethylformamid und Wasser umkristallisiert. Schmp. 272-274° (u. Zers.).

$C_{10}H_{16}O_2N_6$ (324,3) Ber.: C 59,25 H 4,97
Gef.: C 59,05 H 5,23

Umlagerung des 4-Phenylphenylglyoxals mit KOH

500 mg Glyoxal XXIII wurden in Methanol gelöst, im Kühlschrank auf 0° abgekühlt und unter Lichtschutz und Stickstoffbegasung 10 ml eisgekühlte 5proz. methanolische Kalilauge zugegeben. Nach 12 Std. Stehen im Kühlschrank wurde die leicht gelbliche Lösung mit 2 n H_2SO_4 angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach üblicher Aufarbeitung zeigte das Dünnschichtchromatogramm 4 Flecke. Das Verseifungsprodukt wurde erneut alkalisch gemacht, mit Äther extrahiert bis die wässrige Lösung farblos wurde, anschließend mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Das Dünnschichtchromatogramm zeigte nun 2 Säurekomponenten an. Rf 0,19: Hydroxysäure XXII; Rf 0,78: p-Phenylbenzoesäure XXI.

Trennung der 4-Phenyl-phenylsäuren durch präparative Schichtchromatographie

Der gute Trenneffekt in Fließmittel I konnte durch wiederholtes Entwickeln nicht weiter verbessert werden. Die

abgenommenen Kieselgelschichten wurden am Soxhlet mit Äther/Methylenchlorid extrahiert und durch mehrmaliges Umkristallisieren gereinigt. 4-Phenyl-phenylglykolsäure: Schmp. 196-198°.

$C_{14}H_{12}O_3$ (228,2) Ber.: C 73,67 H 5,30
Gef.: C 73,47 H 5,46

p-Phenylbenzoesäure XXI: Schmp. 217-220° (Nadeln aus Aceton), Sublimation bei 150°/1,5 Torr.

$C_{13}H_{10}O_2$ (198,2) Ber.: C 78,77 H 5,09
Gef.: C 78,72 H 5,25

Veresterung von 4-Phenyl-phenylglykolsäure XXII mit Diazomethan

Es wurde wie zuvor beschrieben in ätherischer Lösung gearbeitet. Ausbeute: 95% d. Th. Schmp. 82-83°.

4-Phenyl-phenylglyoxylsäuremethylester aus XXVII

324 mg Hydroxyester XXVII wurden in 20 ml Eisessig gelöst und 240 mg Chrom(VI)-oxid in 20 Tropfen Wasser zugefügt. Nach 3 Std. wurde das überschüssige CrO_3 mit Methanol reduziert und wie üblich aufgearbeitet. Im Kühlschrank entstanden leicht gelbliche Kristalle, die bei Raumtemperatur sofort schmolzen.

4-Phenyl-phenylglyoxylsäuremethylesteroxim XXXIX

1 g Hydroxylaminhydrochlorid und 2 g Natriumacetat wurden in 10 ml Wasser gelöst und zu dem gesamten Ansatz des Ketoesters XXVII in 20 ml Methanol zugefügt. 3 Min. wurde auf dem schwach siedenden Wasserbad erwärmt und zur Kristallisation in den Kühlschrank gestellt. Umkristallisation aus Methanol. Schmp.: Ab 170° Sublimation an das Deckglas, Klarschmp. 210-212°.

$C_{15}H_{13}O_3N$ (255,2) Ber.: C 70,58 H 5,13 N 5,49
Gef.: C 70,61 H 5,29 N 5,33

4-Phenyl-phenylglyoxylsäure aus Oximester XXIX

Der Methylester wurde wie oben beschrieben mit methanolischer Kaliumcarbonatlösung verseift. Die Oximverseifung

gelang mit konz. Salzsäure, der soviel Methanol zugesetzt worden war, bis Lösung eintrat und nach 15 Min. Erhitzen auf dem siedenden Wasserbad. Bei diesem Verfahren trat teilweise Zersetzung der freien Glyoxylsäure ein. Es ließ sich deshalb keine absolute Reinigung durchführen. Rf 0,38 in Fließmittel I.

Essigsäure-phenacylester

40 g ω-Bromacetophenon wurden in 80 ml Aethanol gelöst und langsam dazu 35 g Kaliumacetat in 120 ml Aethanol gelöst tropfenweise zugegeben. 2 Std. wurde bei Raumtemperatur stehengelassen, bis viel Kaliumbromid ausgefallen war, dann 30 Min. auf dem schwach siedenden Wasserbad erhitzt und anschließend die heiße Flüssigkeit in 4 l Eiswasser gegossen. Der Ester schied sich zunächst ölig ab und erstarrte nach 24stdg. Stehen im Eisschrank. Das gelbrote Rohprodukt konnte durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Äther rein weiß erhalten werden. Ausbeute: 30 g. Schmp. 40° (Lit. 40°).

Verseifung des Essigsäure-phenacylesters

5 g Ester wurden in 50 ml Methanol gelöst und unter Stickstoff mit 8 g Kaliumcarbonat in 50 ml Wasser 18 Std. stehengelassen. Der größte Teil des Methanols wurde i. Vak. bei 30° entfernt, mit verd. Schwefelsäure angesäuert und mit viel Äther extrahiert. Der getrocknete Äther wurde eingeengt und das Rohprodukt aus Äther/Pentan umkristallisiert. Ausbeute: 2,5 g. Schmp. 85-86°.

Kupferacetatdehydrierung von Benzoylcarbinol

1,36 g (10 mmol) Benzoylcarbinol und 2 g (10 mmol) Kupferacetat [$Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$] wurden in abs. Methanol gelöst und 8 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach einigen Std. begann sich rotes Kupfer(I)-oxid abzuscheiden. Insgesamt wurden nach Beendigung der Reaktion in einem A_1-Tiegel 0,343 g Cu_2O (bei 100° getrocknet) gesammelt. Nach Zugabe von 2 g AeDTA in 50 ml Wasser wurde das Methanol bei 30° unter vermindertem Druck entfernt, dann wurde

mit Äther extrahiert und dieser mit einer 5proz. Hydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen. Der Äther wurde über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Als Rückstand verblieb ein gelbes Öl. Reinigung durch Kugelrohrdestillation bei 90-110°/1,5 Torr. Im Dünnschichtchromatogramm und IR-Spektrum ergab sich Übereinstimmung mit frisch destilliertem Phenylglyoxal.

Umsetzung von 4-Phenyl-phenylhydroxymethylketon XX mit TTC

Ein Ansatz unter den zuvor beschriebenen Bedingungen im Molverhältnis Ketol:TTC = 1:2 ergab als Rohprodukt nach der üblichen Aufarbeitung in 25proz. Ausbeute leicht verunreinigte Hydroxycarbonsäure. Umkristallisation aus Essigsäureäthylester ergab einen Schmp. von 196-198°. Der Mischschmp. mit durch Glyoxalumlagerung gewonnener Säure XXII zeigte keine Depression, ebenso waren die IR-Spektren und das dünnschichtchromatographische Verhalten gleich.

In der organischen Formazanphase konnte durch Rf-Vergleich als Hauptprodukt 4-Phenyl-phenylglyoxal erkannt werden. zur Identifizierung wurde das Methylenchlorid unter vermindertem Druck abgezogen und der Rückstand mit 70 ml einer 10proz. methanolischen Kalilauge 3 Std. stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden in 70proz. Ausbeute 4-Phenyl-phenylglykolsäure, die mit wenig p-Phenylbenzoesäure verunreinigt war, gewonnen.

Bei einem Ansatz mit inverser Zugabe der quartären Base wurden die gleichen Ergebnisse erzielt.

Umsetzung von Benzoylcarbinol mit TTC

1,42 g Benzoylcarbinol wurden in 100 ml Methylenchlorid mit 4 g TTC gelöst. Rasch wurden 20 ml 40proz. methanolische Benzyltrimethylammoniumhydroxidlösung zugegeben. Nach 2 1/2stdg. Einwirkungszeit unter den analogen Bedingungen wie bei den Steroidversuchen beschrieben, konnte durch direkte Chromatographie der org. Formazanphase als Hauptprodukt Phenylglyoxal erkannt werden. Nach Ex-

traktion mit 5proz. Hydrogencarbonatlösung wurde keine Säure gefunden.

Inverser Ansatz: Nach einer Stunde Reaktion zeigte das Dünnschichtchromatogramm das gleiche Ergebnis wie oben. Daneben war ein kleiner Fleck mit Rf 0,27 entstanden.

Das jeweils in der Formazanphase vorhandene Phenylglyoxal wurde durch Umlagerung mit Kalilauge in Mandelsäure identifiziert.

Cyclohexancarbonsäurechlorid (Hexahydrobenzoesäurechlorid) XXXII

50 g Cyclohexancarbonsäure wurden mit 75 g frisch destilliertem Thionylchlorid 20 Std. unter Feuchtigkeitsausschluß stehengelassen. Es kam hierbei sofort zu einer Gasentwicklung, die über ein Blaugelrohr abgeleitet wurde. Anschließend wurde eine Std. bei 50° erhitzt und dann das überschüssige Thionylchlorid abdestilliert. Das an der Luft rauchende Säurechlorid wurde bei 70°/13 Torr fraktioniert. Ausbeute: 45 g (78,6% d. Th.).

Diazoketon XXXIII

18 g Cyclohexancarbonsäure wurden in 100 ml absolutem Äther (über Natrium und Benzophenon abs.) gelöst und zu einer überschüssigen Diazomethanlösung, die aus 50 g Nitrosomethylharnstoff in 500 ml Äther bereitet worden war, unter Eiskühlung zugetropft. Eine schwache Gasentwicklung zeigte den langsamen Verlauf der Umsetzung an. Nach 20 Std. Stehen bei Raumtemperatur wurde der Äther vorsichtig bei 20° unter vermindertem Druck abdestilliert. Es blieb ein gelbes Öl zurück. Ausbeute: 15,5 g (93,3% d. Th.).

Essigsäureester XXXIV und Verseifung zu Cyclohexylhydroxymethylketon XXXV

15 g Diazoketon wurden langsam zu 250 ml Eisessig, der auf 50° erwärmt worden war, getropft. Es trat eine schwache

Stickstoffentwicklung auf. Dann wurde auf 90° erwärmt und eine Std. bei Raumtemperatur stehengelassen. Beim Erwärmen verstärkte sich die Gasentwicklung, die jedoch nach 30 Min. beendet war. Anschließend wurde der Eisessig i. Vak. abdestilliert und das Rohprodukt im Vakuumexsikkator über KOH getrocknet. Eine kleine Probe wurde aus Äther/Pentan umkristallisiert. Schmp. 38-39,5°. Ausbeute: 15 g (71,4% d. Th.).

7,7 g Ester XXXIV wurden mit Kaliumcarbonat in Methanol verseift (s. Benzoylcarbinol). Das gelbrote Öl, das als Rohprodukt gewonnen wurde, konnte durch wiederholte Kugelrohrdestillation gereinigt werden. Das klare, farblose Öl kristallisierte im Kühlschrank. Schmp. 27-28°; Sdp.$_{1,5}$ 100-103°. Ausbeute: 5,1 g (78,8% d. Th.). Rf 0,5 mit Fließmittel I.

$C_8H_{14}O_2$ (142,1) Ber.: C 67,57 H 9,93
Gef.: C 67,56 H 9,87

Cyclohexyl-hydroxymethylketon-semicarbazon XXXVI

1 g Semicarbazid·HCl und 2 g wasserfreies Natriumacetat wurden in 10 ml absolutem Aethanol gelöst, kurz aufgekocht und sofort filtriert. 500 mg Ketol wurden in 10 ml Aethanol rasch zugegeben und 1 Std. am Rückfluß gekocht. Dann wurden 10 ml Aethanol abdestilliert und mit 20 ml Wasser verdünnt. Nach 3 Tagen trat Kristallisation im Kühlschrank ein. Umkristallisation aus Wasser bis zum konst. Schmp. von 156-157°. Ausbeute: 92% d. Th.

$C_9H_{17}O_2N_3$ (199,2) Ber.: N 21,09
Gef.: N 21,09

Cyclohexylchlormethylketon XXXVII

23 g Cyclohexancarbonsäurechlorid wurden mit 250 ml Äther versetzt und dazu 0,2 Mol (17,2 g) Piperidin in 50 ml Äther gegeben. Der Kolben wurde mit einem $CaCl_2$-Rohr verschlossen. Nach 1 Std. trat langsam kristalline Abscheidung von Piperidinhydrochlorid ein. Nach 24stdg. Stehen bei Raumtemperatur wurde das Aminsalz abfiltriert und die

ätherische Lösung mit Wasser gewaschen. Dann wurde mit 2 n H_2SO_4 erschöpfend extrahiert, die vereinigten sauren Extrakte mit Äther gegengewaschen und die wässrige Phase unter Eiskühlung mit 3 n KOH alkalisiert. Mit Äther wurde ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. fraktioniert. Farbloses Öl mit $Sdp._{14}$ 145-146°, das sich an der Luft rasch gelblich verfärbte. Ausbeute: Rein 9,7 g (46,5% d. Th.). Rf 0,65 in Aceton/Petroläther (50-70°) 4:6. Eine Probe wurde erneut destilliert bei 104°/2 Torr und sofort elementaranalytisch untersucht.

$C_{13}H_{23}ON$ (209,3) Ber.: N 6,69
Gef.: N 6,63

Hg(II)-Acetatspaltung von Cyclohexoylpiperidin

1 mmol (2,09 g) Cyclohexoylpiperidin wurden in 50 ml 5proz. Essigsäure gelöst und unter magnetischem Rühren mit 2 mmol Hg(II)-Acetat in 50 ml 5proz. Essigsäure versetzt. Nach 15 Min. trat deutliche Abscheidung von Hg(I)-Acetat ein. 4 1/2 Std. wurden unter Lichtschutz gerührt, dann wurde das ausgefallene Hg(I)-Acetat durch eine G3-Fritte abgetrennt, das Filtrat mehrmals mit Methylenchlorid ausgeschüttelt und die vereinigten Methylenchloridausschüttelungen mit 30 ml einer 1proz. Hydrogencarbonatlösung gewaschen. Über Natriumsulfat wurde getrocknet und das Lösungsmittel rasch unter vermindertem Druck entfernt. Sobald das entstandene Glyoxal mit CH_2Cl_2 in Berührung gekommen war, trat eine intensive Gelbfärbung auf. Das Rohprodukt XXXIX bestand aus einem gelben, scharf riechenden Öl, das dünnschichtchromatographisch nur geringfügig verunreinigt war und durch Kugelrohrdestillation ($Sdp._3$ 120°) nicht weiter gereinigt werden konnte.

1,3-Diphenyl-2-cyclohexoyl-tetrahydroimidazol XLX[52)]

Das rohe Glyoxal XXXIX wurde in Methanol gelöst und mit 20 ml einer Lösung von 5,3 g Dianilinoäthan und 1,3 ml 50proz. Essigsäure in 100 ml Methanol versetzt. Nach einem Tag hatten sich im Kühlschrank fast reine Kristalle abgeschieden. Umkristallisation aus Methanol ergab lan-

zettlich-flache Kristalle, die sich bei 160°/1 Torr sublimieren ließen. Schmp. 146-148°. Ausbeute: 91% d. Th.

$C_{22}H_{26}ON_2$ (334,4) Ber.: C 79,00 H 7,84
Gef.: C 79,14 H 7,95

Cyclohexylglykolsäure XL aus Cyclohexylglyoxal

1g öliger Ketoaldehyd XXXIX wurden in 20 ml Methanol gelöst und mit 20 ml n NaOH unter Stickstoffbegasung versetzt. 18 Std. wurde lichtgeschützt bei Raumtemperatur stehengelassen. Die anfänglich weiße trübe Flüssigkeit wurde gelb und klar. Mit verdünnter Salzsäure wurde angesäuert und mit einer Mischung von Essigester/Methylenchlorid und Äther extrahiert. Die org. Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Umkristallisation aus Essigester/Pentan. Schmp. 134-135°. Ausbeute: 90% d. Th. Rf 0,13 in Fließmittel I.

$C_8H_{14}O_3$ (158,1) Ber.: C 60,74 H 8,92
Gef.: C 61,05 H 8,65

Umsetzung von Cyclohexylhydroxymethylketon mit TTC

a) 0,70 g Ketol XXXV und 1,7 g TTC (Molverhältnis 1:1) wurden in 80 ml Methylenchlorid gelöst und mit 5 ml Benzyltrimethylammoniumhydroxidlösung unter Eiskühlung 4 Std. unter Lichtschutz magnetisch gerührt. Der Ansatz war nach Beendigung noch deutlich alkalisch. Nach üblicher Aufarbeitung wurden durch Hydrogencarbonatextraktion 380 mg gewonnen, berechnet als Glyoxylsäure = 44,8% d. Th. Das gelbliche Öl kristallisierte nach 16 Std. im Vak.-Exsikkator. Die Kristalle waren jedoch so stark hygroskopisch, daß sie an der Luft sofort zerflossen. Schmp. in der zugeschmolzenen Kapillare 50-52°. Reinigung gelang durch Vakuumsublimation (60-70°/1,5 Torr).

$C_8H_{12}O_3$ (156,18) Ber.: C 61,52 H 7,75
Gef.: C 61,57 H 7,91

In der Formazanphase verblieb ein mit DNP orange detektierbarer Fleck (Rf 0,51), der durch Vergleich mit

authentischem Material als Cyclohexylglyoxal erkannt wurde.

b) Ein Ansatz im Molverhältnis Ketol:TTC = 1:2 ergab 435 mg (55,3% d. Th.) Ketocarbonsäure.

Cyclohexylglyoxylsäure-4-nitrophenylhydrazon XLIII

0,5 g ölige Cyclohexylglyoxylsäure wurden in 3 ml Aethanol gelöst und mit 10 Tropfen Wasser und 3 Tropfen Eisessig versetzt. Dann wurden 0,6 g 4-Nitrophenylhydrazin in 15 ml heißem Aethanol zugegeben, 2 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt und zur Kristallisation in den Eisschrank gestellt. Umkristallisation aus Aethanol (96%) ergab feine wollartige Nadeln, die keinen scharfen Schmp. lieferten. Plättchen aus Toluol. Schmp. 194-198° u. Zers.

$C_{14}H_{17}O_4N_3$ (291,3) Ber.: C 57,72 H 5,88 N 14,43
Gef.: C 57,60 H 5,83 N 14,35

Cyclohexylglyoxylsäuresemicarbazon-dehydratisierungsprodukt

0,5 g Semicarbazid·HCl und 0,75 g Natriumacetat wurden in 5 ml absol. Aethanol kurz aufgekocht und sofort heiß auf ca. 250 mg öliges Cyclohexylglyoxylsäure filtriert. Nach 6 Std. schieden sich bei Raumtemperatur Kristalle ab. Schmp. Rohprodukt: 176-177°. Nach dem Umkristallisieren aus heißem Aethanol erhöhte sich der Schmp. auf 257-262°. 48stdg. Trocknen bei 120° über P_2O_5 führte zum konstanten Schmp. 260-261° (lanzettliche Nadeln aus Aethanol).

$C_9H_{11}ON_3$ (177,2) Ber.: N 23,72
Gef.: N 23,66

Glyoxylsäuremethylesterhalbacetal[55] aus Weinsäure

50 g Weinsäure wurden mit 50 g Methanol übergossen und unter leichter Kühlung (Eiswasser) bis zur vollständigen Sättigung HCl-Gas eingeleitet. Nach 24 Std. wurde von

55) R.ANSCHÜTZ u. A.PICTET, Ber.dtsch.chem.Ges. 13, 1176. P.L.STEDEHOUDER, Rec.Trav.chim.Pays-Bas 71, 831 (1952).

ungelöster Säure abfiltriert, durch die Flüssigkeit ein trockener Luftstrom gesaugt und durch Erhitzen auf dem Wasserbad unter stark vermindertem Druck völlig von Methanol und wäßriger Salzsäure befreit. Nach Zugabe von einer gleichen Menge Methanol wurde nochmals HCl-Gas eingeleitet und wie zuvor verfahren. Schließlich wurde sorgfältig getrocknet und i. Vak. destilliert. $Sdp._{25}$ 160-170°; Lit.: $Sdp._{23}$ 163°. Stark visköse Flüssigkeit.

0,05 Mol Bleitetraacetat wurden unter kräftigem Rühren und Kühlen mit Eiswasser zu einer Lösung von 0,05 Mol Weinsäuredimethylester in 100 ml abs. Benzol gegeben. 6 Std. wurde bei Raumtemperatur gerührt, dann durch eine G3-Fritte filtriert und ca. 65 ml Benzol über eine 50 cm-Vigreux-Kolonne abdestilliert (obwohl mit Kühlfinger bei vermindertem Druck und 70° Badtemperatur gearbeitet wurde, färbte sich das Destillat mit konz. Ammoniak tiefrot, was auf die leichte Flüchtigkeit der Verbindung hinwies). Es wurden zum Rückstand 40 ml abs. Methanol zugefügt, 12 Std. stehengelassen, filtriert und der feste Rückstand mit Methanol gewaschen. Nachdem der größte Teil Methanol über die gleiche Kolonne abdestilliert worden war, wurde die Kolonne rasch entfernt und der Rückstand i. Vak. fraktioniert; $Sdp._{140}$ 95°. Die 2. Destillation ergab ein gaschromatographisch reines Produkt. Rf 0,50 in Fließmittel IIIa.

Weinsäure-p-phenylphenacylester

1,5 g Weinsäure (10 mmol) wurden in 10 ml Wasser und 10 ml Methanol gelöst, mit 0,1 n NaOH genau auf pH 7,5 eingestellt. (Nach wenig Alkalizugabe fiel das Mononatriumsalz aus, das gegen Ende der Titration wieder in Lösung ging). Es wurden dann 250 ml Methanol zugegeben, wobei das Salz wieder kristallin ausfiel. In einer entsprechenden Menge Wasser wurde das Salz gelöst und mit 5,5 g p-Phenylphenacylbromid (20 mmol) 3 Std. am Rückfluß auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Zum Schluß wurden noch-

mals 50 ml Wasser zugegeben und nach dem Abkühlen mit Benzol unumgesetztes p-Phenylphenacylbromid extrahiert. Der beim Erkalten auskristallisierte Ester wurde abgesaugt, mit Methanol, Wasser und Äther gewaschen und aus Äthylenglykolmonomethyläther umkristallisiert. Schmp. 215-218°.

$C_{32}H_{26}O_8$ (538,5) Ber.: C 71,36 H 4,87
Gef.: C 71,16 H 5,15

Bleitetraacetat-Spaltung von Weinsäure-p-phenylphenacylester[56]

500 mg Ester wurden in 37 ml Dimethylsulfoxid und 13 ml Eisessig gelöst. In kleinen Mengen wurden 4 g Bleitetraacetat zugegeben und 3 Std. unter Lichtschutz auf dem Magnetrührer gerührt. Mit 2 n H_2SO_4 wurde anschließend geschüttelt und mit Benzol und Äther extrahiert. Die org. Extrakte wurden vereinigt und mit verd. Schwefelsäure und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Das Rohprodukt zeigte im Dünnschichtchromatogramm mit Fließmittel IV 4 Flecke (Rf 0,93, Rf 0,63, Rf 0,74, Rf 0,37), wobei Rf 0,37 eindeutig überwog. Reinigung gelang durch Vak.-Sublimation bei 1,5 Torr/150°. Kristallisation aus Aceton. Schmp. 217-220°. Der Mischschmp. mit s. o. dargestellter p-Phenylbenzoesäure zeigte keine Depression. IR-Spektren waren deckungsgleich.

Tetraäthylammoniumperjodatspaltung von Weinsäure-p-phenylphenacylester[57]

Darstellung von Tetraäthylammoniumperjodat: 7,72 g para-Perjodsäure (0,034 Mol) wurden in 20 ml Wasser gelöst und portionsweise zu 20 ml eisgekühlter 25proz. Tetraäthylammoniumhydroxidlösung zugefügt. Unter vermindertem Druck wurden die Lösungsmittel abgezogen und die zurückgebliebene glasige Masse mit heißem tert.-Butylalkohol

56) V.ZITKO u. C.T.BISHOP, Canad.J.Chem. 44, 1749 (1966).
57) A.K.QURESHI u. B.SKLARZ, J.chem.Soc.(London) 1966, 412.

extrahiert. Mit Diisopropyläther wurde die Verbindung ausgefällt und aus tert.-Butanol auskristallisiert. Mit Äther wurden die Kristalle gewaschen und dann getrocknet. Schmp. 179-181°.

Tetraäthylammoniumperjodatspaltung von Weinsäure-di-p-phenylphenacylester

a) 538 mg (1 mmol) Weinsäure-di-p-phenylphenacylester wurden in Pyridin mit 321 mg (1 mmol) Tetraäthylammoniumperjodat unter magnetischem Rühren versetzt. Nach 1 Std. Reaktion wurde mit 2 n H_2SO_4 neutralisiert und mit Benzol extrahiert. Anschließend wurde mit Natriumthiosulfatlösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zur Kristallisation gebracht.

b) Ein analoger Ansatz wurde mit wenigen ml Wasser versetzt und 3 Std. gerührt.

Ergebnis: Neben relativ viel unumgesetztem Ester konnten im Dünnschichtchromatogramm 3 Flecke erkannt werden. Der Hauptfleck konnte abgetrennt und als p-Phenylbenzoesäure charakterisiert werden. Ansatz b) zeigte das gleiche Ergebnis.

Umsetzung von Acetol (Hydroxyaceton) mit TTC

3,1 g einer 50proz. Acetollösung (0,02 Mol) wurden mit einer äquimolekularen Menge TTC und 8 ml Benzyltrimethylammoniumhydroxidlösung in 80 ml Methylenchlorid unter den üblichen Bedingungen umgesetzt. Nach 2 1/2 Std. Reaktionszeit wurde der Ansatz mit 4 Mal 25 ml 5proz. Hydrogencarbonatlösung extrahiert, mit 2 n H_2SO_4 angesäuert und über 5 Std. mit insgesamt 200 ml Äther im Perforator extrahiert. Der abgetrennte Äther wurde über Natriumsulfat getrocknet, unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft, darauf der Rückstand wieder in wenig Äther gelöst und mit einer überschüssigen Diazomethanlösung versetzt. Die Lösung wurde konzentriert und sofort gaschromatographisch untersucht.

4 m-K-Säule, Ofentemperatur: 175°, F: 1,7 atü,
Empf.: 10^3 x 8
Retentionszeiten: Brenztraubensäuremethylester 3 Min.
27 Sek.; Milchsäuremethylester 5 Min.
32 Sek.; Acetol 6 Min.

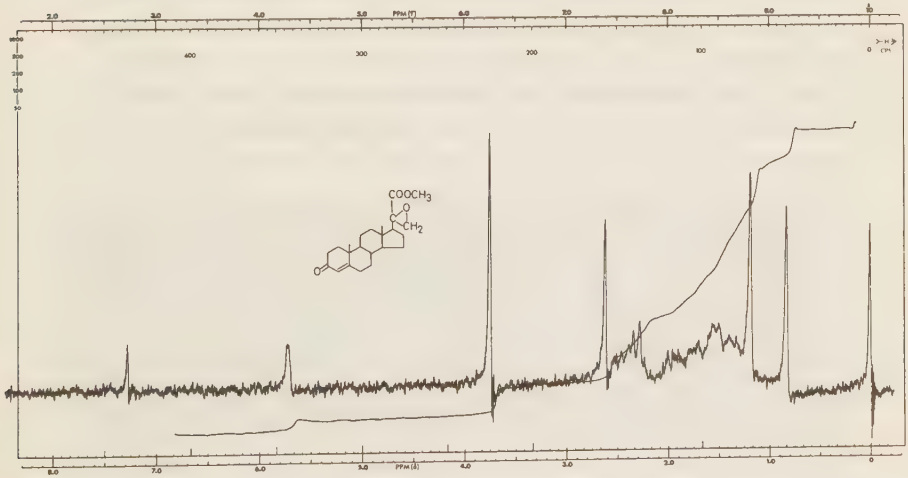
Bandenzuordnung der IR-Spektren

	C_3=O	C=C	C_{20}=O	-COOH	Ester
Δ4-Pregnen-21-ol-3,20-dion (I)	1660 cm^{-1}	1610	1690		
21-Carboxy-20α-hydroxy-Δ4-pregnen-3-on (IIa u. IIb)	1630 cm^{-1}	1615		1720 1735	
Δ4-3-Keto-ätiocholensäure (V)	1630 cm^{-1}	1610		1730	
21-Carboxymethyl-Δ4-pregnen-3,20-dion (IX)	1660 cm^{-1}	1610	1711		1728
21-Carboxy-Δ4-pregnen-3,20-dion (VI)	1630 cm^{-1}	(1610) Schulter	1710	(1730) Schulter	
21-Carboxymethyl-20α-hydroxy-Δ4-pregnen-3-on (IIIa u. IIIb)	1655 cm^{-1}	1605	1725	1726 1735	
Δ4-Pregnen-21-hydroxy-21-methoxy-3,20-dion (IV)	1660 cm^{-1}	1610	1718	Äther bei 1075	
C_{21}-Carboxy-p-phenylphenacyl-Δ4-pregnen-3,20-dion (VII)	1665 cm^{-1}	1610 Schulter Phenylkern 1600	1688(Arylketon) 1710		1751
17α,21-Dihydroxy-Δ4-pregnen-3-on (XI)	1670 cm^{-1}	1610	1705		
Androst-4-en-3,17-dion (XV)	1655 cm^{-1}	1610	1730 (C-17)		
Δ4-21-Carboxymethyl-17α,20-dihydroxy-pregnen-3-on (XIV)	1670 cm^{-1}	1610			1720 u. 1735
21-Carboxy-17α,20-dihydroxy-Δ4-pregnen-3-on (XIII)	1630 cm^{-1}	1610		1695	
C_{21}-Carboxy-p-phenyl-phenacyl-Δ4-17α-hydroxy-pregnen-3,20-dion (XVI)	1670 cm^{-1}	(1610) Schulter Phenylkern 1600	(1700)		1741

Anhang

Diskussion der NMR- und IR-Spektren von Substanz X

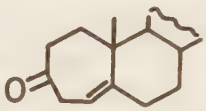
Zur Charakterisierung des Homologisierungsproduktes X wurde ein NMR-Spektrum angefertigt. Bei τ = 8,0 - 9,3 befindet sich ein breiter Komplex von sich überlagernden Resonanzen der Methylengruppen des Steroidgerüstes. Die Signale der angulären Methylgruppen von C-18 und C-19 liegen bei 8,8 bzw. 9,17 τ, die endständige Estermethylgruppe bei 6,25 τ und das olefinische Proton an C-4 bei 4,3 τ. Ein weiteres Signal bei 7,39 τ, dem nach der Integration 2 Protonen zukommen, müßte die für die Homologisierung verantwortliche Methylengruppe darstellen.



E. MÜLLER u. a.[58], die Homologisierungen an verschiedenen Ketosteroiden mit Lewis-Säuren als Katalysatoren

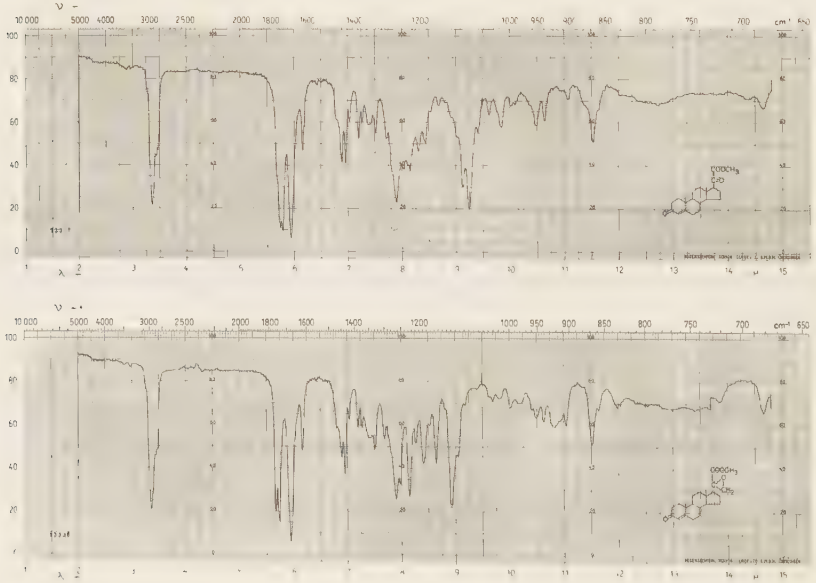
58) E.MÜLLER, B.ZEEH, R.HEISCHKEIL, H.FRICKE u. H.SUHR, Liebigs Ann.Chem. 662, 38 (1963).

durchgeführt hatten, beschrieben nur folgende Ringerweiterung in Ring A:



Durch einen Eintritt der Methylengruppe im Ring A zwischen Carbonyl und Doppelbindung wird dabei das Signal des Vinylwasserstoffes in ein Triplett aufgespalten und die neu eingetretene CH_2-Gruppe erscheint als nicht aufgelöstes Multiplett bei ca. 170 Hz. (7,18 τ).

Weiterhin dürfte bei einer Ring A-Erweiterung im IR-Spektrum+) keine konj. En-on-Gruppe mehr auftreten. Es würde sich dies in einer Verschiebung der Carbonylbande von 1680 cm^{-1} (C=O konj.) nach 1730 cm^{-1} (C=O isoliert) zeigen. Aus nachfolgenden IR-Spektren geht jedoch eindeutig hervor, daß die Δ4-3-on-Gruppe unverändert geblieben ist.



+) Gemessen in CCl_4, Perkin-Elmer, Mod. 21.

Es ist bemerkenswert, daß E. MÜLLER u. a. keine Homologisierung in der Seitenkette von Progesteron und Cortexonacetat (Desoxycorticosteronacetat), die jeweils zusätzlich zur En-on-Gruppierung eine C-20-Carbonylfunktion besitzen, gelang.

An α-Ketocarbonsäuren lagen bisher noch keine Untersuchungen vor. E. MÜLLER und M. BAUER[59] hatten jedoch Diazoalkane auf α-Diketone einwirken lassen. Diese lieferten bei der katalytischen Homologisierung lediglich die entsprechenden Epoxide.

Die Lewis-Säuren bilden dabei mit dem Diketon intermediär einen relativ stabilen Chelatkomplex, sodaß das Diazomethan noch leicht angreifen kann. Nach der Abspaltung des Stickstoffs geht dann der verbleibende Rest leichter eine Epoxidbildung ein als eine Homologisierung.

Die größere Reaktionsfähigkeit der α-Dicarbonylverbindungen gegenüber Diazomethan dürfte auf eine Vergrößerung des Dipolmomentes der Carbonylgruppe durch intramolekulare Induktion zurückzuführen sein[60]. Dieser Effekt wird durch polare Stoffe, wie in unserem Beispiel Methanol, zusätzlich erhöht, indem sich ein Proton an ein einsames Elektronenpaar des Carbonylsauerstoffs anlagert.

Eine Epoxidbildung bei Substanz X sollte im NMR-Spektrum eine Aufspaltung der Methylengruppe in ein Doublett geben[61]. Die zuerst diskutierte einfache Homologisierung der Form $=CH-CO-CH_2-COOCH_3$ ließe ein Singulett für die Methylengruppe erwarten, jedoch sprach die chemische Verschiebung gegen eine solche Struktur. Aufgrund der gefundenen Ergebnisse ist ersichtlich, daß die für die Homologisierung

---

59) E.MÜLLER u. M.BAUER, Liebigs Ann.Chem. 654, 92 (1962).
60) H.MEERWEIN, T.BERSIN, W.BURNELEIT, Ber.dtsch.chem.Ges. 62, 999 (1929).
61) H.SUHR, Anwendungen der Kernmagnetischen Resonanz, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1965.

verantwortliche CH_2-Gruppe an C-20 fixiert sein muß.

Circulardichroitische Untersuchung der Substanz X+)

Bei einer Epoxidbildung dürfte im CD kein Cotton-Effekt, welcher der C-20-Ketogruppe entspricht, auftreten. Die gefundenen Ergebnisse bestätigten diese Annahme.

Progesteron und C-21-Carboxymethyl-Δ4-pregnen-3,20-dion IX dienten als Bezugssubstanzen:

Progesteron (Δ4-Pregnen-3,20-dion)

$c = 1{,}59 \cdot 10^{-3}$ Mol/l

$d_1 = -26$ mm; $\Theta_1 = -4050$; $\lambda_1 = 331{,}5$ nm

$d_2 = +73$ mm; $\Theta_2 = +11370$; $\lambda_2 = 290$ nm

Glyoxylsäuremethylester IX (C-21-Carboxymethyl-Δ4-pregnen-3,20-dion)

$c = 1{,}39 \cdot 10^{-3}$ Mol/l

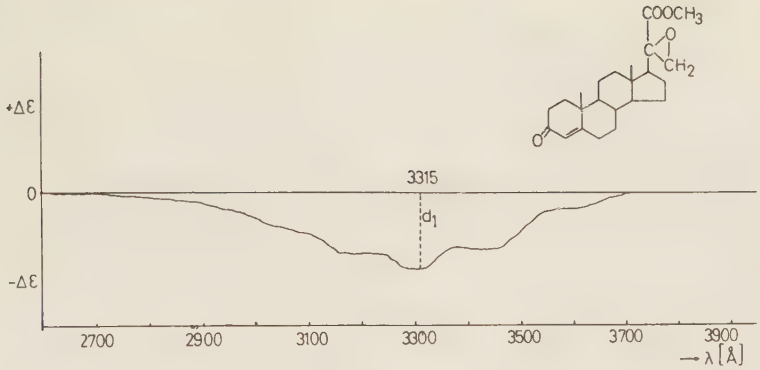
$d_1 = 17$ mm; $\Theta_1 = +3020$; $\lambda_1 = 371$ nm

$d_2 = 26$ mm; $\Theta_2 = +4630$; $\lambda_2 = 318{,}5$ nm, $\lambda_2' = 331$ nm

Der +Effekt bei 371 nm und der für die En-on-Gruppe charakteristische neg. Cotton-Effekt bei 331 bzw. 318,5 nm überlagern sich teilweise, sodaß das Max. bei 331 nm auf die Nullinie zu liegen kommt.

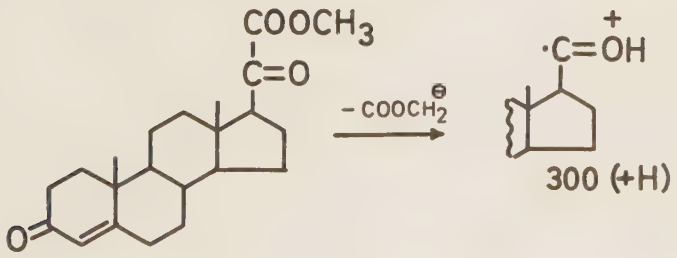
Die bathochrome Verschiebung des CE der C-20-Carbonylgruppe von 290 nm (Progesteron) zu 371 nm ist wahrscheinlich auf einen Mesomerieeffekt zwischen der C-20-Carbonyl- und C-21-Carboxymethylgruppe zurückzuführen.

+) Herrn Apotheker H. Ehrhardt danken wir für Aufnahme und Diskussion der CD-Kurven.

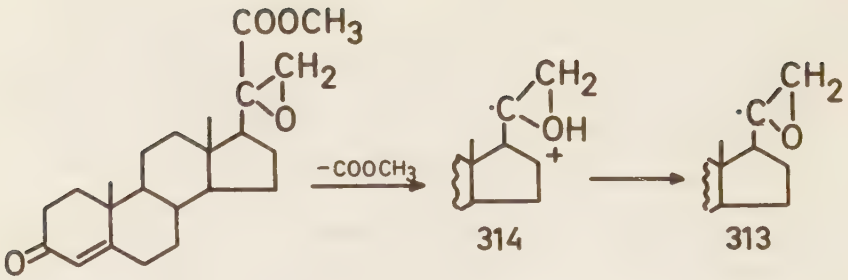


Diskussion der Massenspektren

Mit Hilfe der Massenspektroskopie versuchten wir die mögliche Struktur der Verbindung X anhand ihrer Bruchstücke aufzuklären. Als Vergleich sollte dazu C-21-Carboxymethyl-Δ4-pregnen-3,20-dion dienen. Der Molekülpeak dieser Substanz lag bei 358 m/e. Das erste große Bruchstück befand sich bei 300 m/e und resultierte aus dem Verlust der Carboxymethylgruppe.

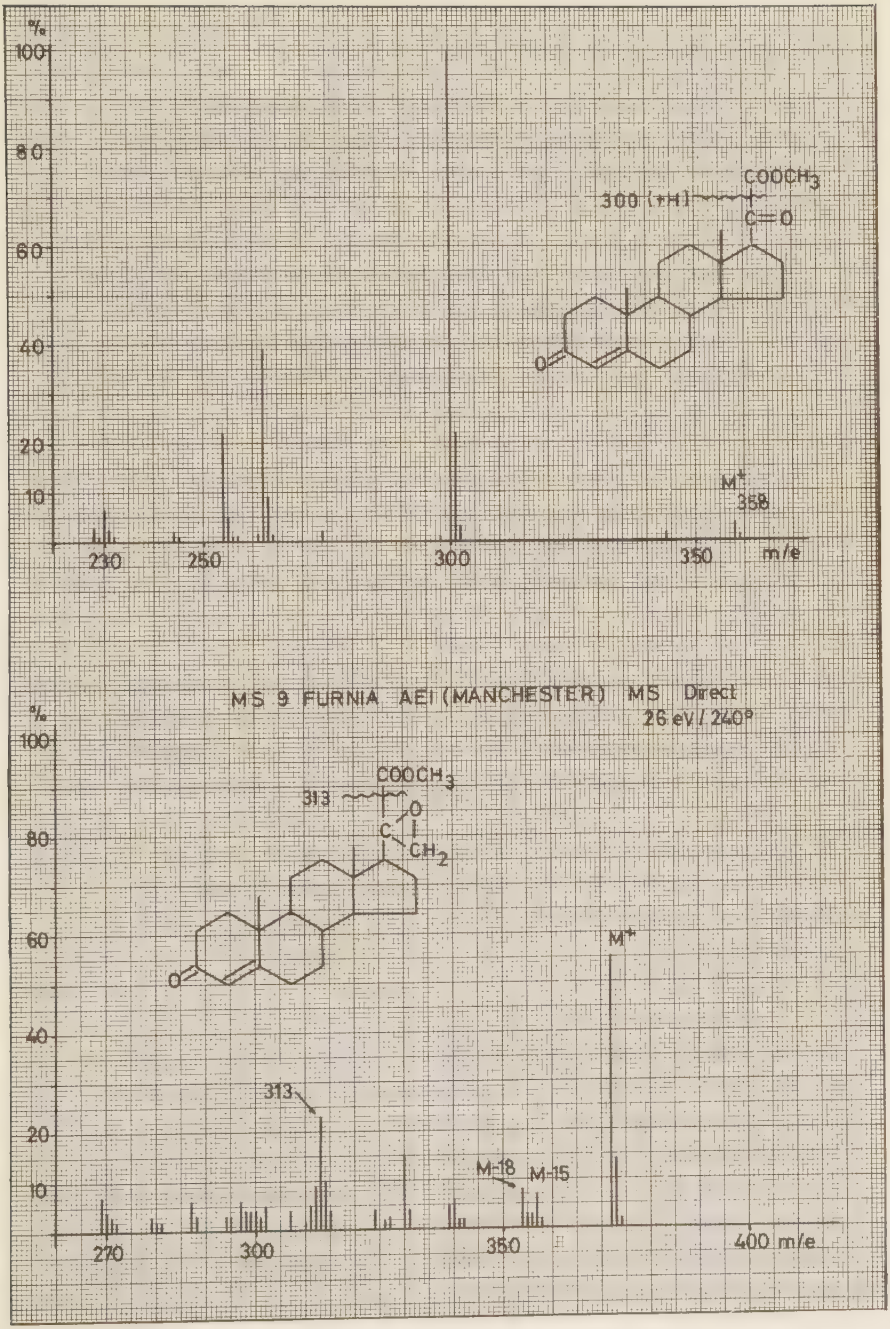


Analog verläuft dieser Schritt bei Substanz X, die einen Massenpeak bei 372 m/e zeigt.



Fragment 314 m/e entsteht durch Wasserstoffverschiebung und M-15 unter Verlust des Methylradikals, das aus der Carboxymethylgruppe eliminiert wurde. Die weitere Fragmentierung verläuft nun nicht mehr einheitlich. Abspaltung einer H_2O-Gruppe würde zu Fragment 295 m/e und eine CH_2-Gruppe zu 299 m/e führen.+)

+) Über den weiteren Abbau von Ketosteroiden s. H.BUDZIKIEWICZ u. C.DJERASSI, J.Amer.chem.Soc. 84, 1430 (1962).


%
100
80
60
40
20
10
230
250
300
350
m/e
300 (+H)
COOCH3
C=O
O
M+
358
MS 9 FURNIA AEI (MANCHESTER) MS Direct
26 eV / 240°
313
COOCH3
O
C
CH2
O
M+
313
M-18
M-15
270
300
350
400 m/e

L e b e n s l a u f

Geboren bin ich, Hans-Dieter Schittenhelm, am 13. November 1939 in Stuttgart als 2. Sohn des Fabrikanten Erich Schittenhelm und dessen Ehefrau Emilie, geb. Einsele.

Herbst 1946 wurde ich in die Volksschule Holzgerlingen eingeschult. Der Übergang in die höhere Schule erfolgte in die Tübinger Freie Waldorfschule. Nach einer 13jährigen Schulzeit legte ich die Reifeprüfung am 10. März 1959 in Tübingen ab.

Während der vorgeschriebenen Praktikantenzeit vom 2. November 1959 bis 31. Oktober 1961 in der Schönbuch-Apotheke in Holzgerlingen legte ich im April 1961 die Ergänzungsprüfung in Latein am Eberhard-Ludwigs-Gymnasium in Stuttgart ab.

Nach der pharmazeutischen Vorprüfung am 11. September 1961 immatrikulierte ich mich zum Sommersemester 1962 an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen und legte dort am 29. Oktober 1965 das Pharmazeutische Staatsexamen ab.

Im Wintersemester 1965/66 begann ich unter der Leitung von Herrn Dozent Dr. H. Möhrle mit der Abfassung vorliegender Dissertation, die ich im Wintersemester 1967/68 beendete.

Meine akademischen Lehrer waren - außer Herrn Dozent Dr. H. Möhrle - die Herren Professoren H. Auterhoff, K. G. Bergner, E. Graf, W. Hückel (Pharmazie); M. Hanack, E. Müller (organ. Chemie); W. Rüdorff (anorgan. Chemie); G. Weitzel (physiolog. Chemie); F. Lembeck (Pharmakologie); R. E. Bader (Hygiene); K. Mörike (Anatomie); H. Krüger (Physik); E. Bünning, K. Hummel, K. Mägdefrau, H. Metzner und W. Zimmermann (Botanik).